Methoden der Festkörper-NMR-Spektroskopie zur Strukturaufklärung an supramolekularen Systemen: Abstandsmessungen zwischen den Kernen ^{15}N, ^{1}H und ^{2}H

Diplomarbeit

Zur Erlangung des Grades
eines Diplomchemikers
dem Fachbereich Chemie und Pharmazie der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
vorgelegt von

Martin Schulz-Dobrick
geboren in Göttingen

Mainz im August 2004

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom 13. Januar 2004 bis zum 31. August 2004
am Max-Planck-Institut für Polymerforschung
unter der Betreuung von Herrn Prof. Dr. H. W. Spiess ausgeführt.

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG 3

2 THEORETISCHE GRUNDLAGEN 7

2.1 Quantenmechanische Beschreibung von Spinsystemen 7

2.2 Wechselwirkungen in der NMR 8
2.2.1 Die Zeemann-Wechselwirkung und die Säkularnäherung 9
2.2.2 Die chemische Verschiebung 10
2.2.3 Die Dipol-Dipol-Kopplung 12
2.2.4 Die Quadrupolkopplung 13
2.2.5 Die Wirkung von Radiofrequenzpulsen 14

3 MAGIC-ANGLE SPINNING (MAS) UND RECOUPLING METHODEN 16

3.1 Probenrotation am Magischen Winkel 16

3.2 Prinzip von Wiedereinkopplungssequenzen (Recoupling) 20

3.3 Die REDOR-Pulssequenz 23

3.4 Die Back-to-Back-Pulssequenz (BaBa) 26

4 ^{1}H-^{15}N-ABSTANDSBESTIMMUNGEN 29

4.1 Verwendete Substanzen 30

4.2 REREDOR und HDOR 32
4.2.1 Methodische Grundlagen 32
4.2.2 Einfluss von endlichen Pulslängen 38
4.2.3 Einfluss von Störkopplungen 40
4.2.4 Einfluss von Fluktuationen in der Rotationsfrequenz 42

4.3 ^{1}H-^{15}N-Abstandsbestimmungen in den Ureido-Pyrimidinonen 45
4.3.1 Quantenchemische Rechnungen 45
4.3.2 NMR-Strukturbestimmung an der Pyrimidinon-Form 45
4.3.3 NMR-Strukturbestimmung an der Pyrimidinol-Form 50
4.3.4 Berechnete und gemessene Strukturen: Die Bedeutung von Schwingungskorrekturen 53

4.4 ^{1}H-^{15}N-Abstandsbestimmungen im Cytosin-Monohydrat 56
4.4.1 CPMD-Rechnungen 56
4.4.2 NMR-Strukturbestimmung und Vergleich mit Daten der Rechnungen und Neutronenbeugung 56

5 ^{1}H-^{1}H-ABSTANDSBESTIMMUNGEN 60

5.1 Methodische Grundlagen 60

5.2 Messungen an den Ureido-Pyrimidinonen 61

6 ABSTANDSMESSUNGEN UND CHEMISCHE VERSCHIEBUNGSKORRELATION VON DEUTERONEN 65

6.1 Deuteronen-REREDOR 65

6.2 Abstandsmessungen am ^{2}H-^{15}N-Cytosin-Monohydrat 69

6.3 Deuteronen-Korrelationsspektroskopie 72

7 MESSUNG UND BERECHNUNG VON DEUTERON-QUADRUPOLKOPPLUNGEN 81

7.1 Methodische Grundlagen 81

7.2 Experimentelle Ergebnisse 83

7.3 Berechnung von Quadrupolkopplungen 85

8 ZUSAMMENFASSUNG 88

9 ANHANG 92

10 LITERATURVERZEICHNIS 94

1 Einleitung

Während die molekulare Chemie versucht, gezielt Moleküle durch Bildung kovalenter Bindungen zwischen den Atomen aufzubauen, so hat das Gebiet der supramolekularen Chemie [Lehn 95] die Zielsetzung, Verbindungen zwischen diesen Molekülen zu schaffen, sie zu ordnen und Überstrukturen zu generieren. Die Wurzeln der molekularen Chemie reichen bis in das 19. Jahrhundert zurück, und heutzutage ist die Kontrolle über die selektive Bindungsknüpfung und Bindungsspaltung bis hin zur asymmetrischen Synthese von chiralen Verbindungen so weit vorangeschritten, dass im Bereich der Organischen Chemie beeindruckende Verbindungen von großer Komplexität selektiv und effizient synthetisiert wurden. Die supramolekulare Chemie hingegen ist noch ein recht junges Gebiet und geht auf Arbeiten in den 1970er Jahren zurück. Ein wichtiger Pionier war Jean-Marie Lehn, der 1987 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet wurde.

Das große Vorbild der supramolekularen Chemie ist die Natur. In biologischen Systemen sind molekulare Wechselwirkungen weit verbreitet, beispielsweise in der DNA, bei der Synthese von Proteinen, bei der Substratbindung an Rezeptoren, bei enzymatischen Reaktionen, bei Antigen-Antikörper-Wechselwirkungen und vielem mehr. Dabei spielt nicht nur die Wechselwirkung selbst, sondern vor allem die molekulare Erkennung eine wichtige Rolle. Die meisten Vorgänge in Lebewesen beruhen auf diesen selektiven, intermolekularen Wechselwirkungen und werden durch die Biologie und Medizin intensiv studiert. Die supramolekulare Chemie versucht nun, Konzepte von der Natur zu lernen und diese bei der Synthese von supramolekularen Systemen nachzuahmen. Neben Anwendungen in der Medizin gibt es eine Vielzahl anderer, neuer Funktionsmaterialen, wie Flüssigkristalle, Materialien mit bestimmten elektronischen und optischen Eigenschaften [Steed 00] und Polymere, die auf supramolekularen Verbindungen beruhen. Insbesondere die Selbstorganisation und molekulare Erkennung von künstlichen oder biomimetischen Synthesebausteinen zu komplexen Architekturen („Kristall-Engineering“) ist heutzutage ein wichtiges Forschungsgebiet.

Die wichtigsten, nicht-kovalenten Wechselwirkungen, derer sich die supramolekulare Chemie bedienen kann, um einzelne Moleküle zu verbinden und zu organisieren, sind elektrostatische Kräfte, Wasserstoffbrücken, π-π-Wechselwirkungen und Van-der-Waals-Kräfte. Von diesen hat die Wasserstoffbrücke eine besondere Stellung, da sie die stärkste gerichtete Wechselwirkung ist und damit eine Schlüsselrolle bei der modernen supramolekularen Synthese spielt. Eine Übersicht über die Vielfalt der Wasserstoffbrücken und deren physikalisch-chemischen Eigenschaften findet sich in [Steiner 02].

Die Strukturbestimmung in supramolekularen Systemen ist häufig ein Problem. Während die molekulare Struktur der einzelnen Bausteine häufig sehr genau bekannt ist, so ist ihre Anord-

nung in übergeordneten Strukturen oft ungleich schwieriger zu bestimmen. Eine Standardmethode zur genauen Strukturbestimmung in Festkörpern ist die Röntgenbeugung, mit der sowohl die Packung als auch die Struktur der Einheitszelle messbar sind. Jedoch hat die Röntgenbeugung in Bezug auf supramolekulare Verbindungen zwei Nachteile. Es werden Einkristalle entsprechender Größe benötigt, und die Positionen der Wasserstoffatome können aufgrund des niedrigen Streuquerschnitts in der Regel nicht bestimmt werden. Doch gerade die Wasserstoffpositionen sind in komplexen, wasserstoffverbrückten Systemen von großem Interesse. Eine Möglichkeit, diese Problematik zu lösen, ist die Neutronenbeugung, welche in der Lage ist, die Wasserstoffpositionen von deuterierten Verbindungen sehr genau zu messen. Allerdings sind auch für die Neutronenbeugung Einkristalle nötig, und daran scheitert die Methode an vielen supramolekularen Verbindungen endgültig, da sehr häufig keine Einkristalle gezüchtet werden können.

Die wichtigste und bei polykristallinen, supramolekularen Verbindungen häufig einzige experimentelle Alternative zu den Beugungsmethoden ist die Festkörper-NMR-Spektroskopie, deren Anwendung bei der Strukturbestimmung in solchen Systemen Gegenstand dieser Arbeit ist. Die Grundlagen der Festkörper-NMR-Spektroskopie werden im **Kapitel 2** dargelegt. Eine wichtige Eigenschaft, welche die NMR allgemein erfassen kann, ist die chemische Verschiebung. Durch sie können die verschiedenen Kerne nicht nur identifiziert und unterschieden werden, die chemische Verschiebung ist auch Abhängig von der Umgebung der Kerne und damit von der Struktur. Beispielsweise gibt es Untersuchungen, wie die chemische Verschiebung von wasserstoffverbrückten Protonen mit der Stärke der Wasserstoffbrücke korreliert [Becker 96, Bertolasi 97, Harris 00]. Die chemische Verschiebungsauflösung in Festkörpern ist durch die fortschreitende Entwicklung einer immer schnelleren Probenrotation am Magischen Winkel („MAS“) in den letzten Jahren stetig verbessert worden. Diese Technik wird in **Kapitel 3** beschrieben zusammen mit den „Wiedereinkopplungsmethoden“, welche die Grundlage der modernen Festkörper-NMR-Spektroskopie für die Messung von Wechselwirkungen ist. Eine wichtige Wechselwirkung ist die Dipol-Dipol-Kopplung, welche direkt vom Abstand der Kopplungspartner abhängt. Sie kann beispielsweise in Korrelationsexperimenten genutzt werden, um Nachbarschaften zwischen Kernen aufzuklären und damit direkt zur Strukturbestimmung beizutragen. Korrelationsexperimente zwischen den Kernen ^{1}H, ^{13}C und ^{15}N zählen heute zum Standardrepertoire der Festkörper-NMR-Spektroskopie.

Weiterhin kann durch die direkte Messung der Dipol-Dipol-Kopplung zwischen zwei Kernen auf deren Abstand geschlossen werden. Dies ist das Thema in **Kapitel 4**, in welchem Methoden gezeigt werden, mit denen die Wasserstoff-Positionen in Wasserstoffbrücken durch ^{1}H–^{15}N-Abstandsmessungen bestimmt werden können. Die Probleme, die Abstandsmessungen mittels Festkörper-NMR häufig haben, sind die Genauigkeit, die Anwendbarkeit auf komplexere Systeme und die Validierung durch andere Methoden. Insbesondere ist die Notwendigkeit gegeben, nicht nur den kurzen kovalenten Abstand in Wasserstoffbrücken zu messen,

sondern den häufig interessanteren langen Abstand. Für diese Arbeit standen unter anderem zwei komplexe, vierfach-wasserstoffverbrückte Ureido-Pyrimidinon-Dimere zu Verfügung [Söntjens 00], die schon erfolgreich als Bausteine in supramolekularen Polymeren eingesetzt wurden [Sijbesma 97, Brunsfeld 01, Beijer 98]. Ein wichtiger Punkt in dieser Arbeit ist der Vergleich der experimentellen Ergebnisse mit denen anderer Methoden, insbesondere mit quantenchemischen Rechnungen. Diese stellen ein wichtiges Hilfsmittel bei der Strukturbestimmung dar und können sich mit den NMR-Methoden hervorragend ergänzen, insbesondere wenn es um die vollständige Aufklärung von komplexen Wasserstoffbrückenstrukturen geht. Ein Hauptaugenmerk wird auch auf den Einfluss von interatomaren Schwingungen gelegt, welche die Messergebnisse verschiedener Methoden unterschiedlich beeinflussen und für die Interpretation von hochgenauen Abstandsmessungen wichtig werden.

In Systemen mit mehreren Wasserstoffbrücken sind nicht nur die heteronuklearen ^{1}H-^{15}N-Abstände interessant, sondern auch die Abstände zwischen benachbarten Wasserstoffatomen. In **Kapitel 5** geht es um die Messung dieser ^{1}H-^{1}H-Abstände in den Vierfachwasserstoffbrücke der Ureido-Pyrimidinone über die Anregung von Doppelquantenzuständen mittels der homonuklearen Dipol-Dipol-Kopplung.

Im **Kapitel 6** wird ein völlig neuer Weg bei der Charakterisierung von supramolekularen und biologischen Verbindungen eingeschlagen. Er beruht auf der aktiven Verwendung der chemischen Verschiebung von Deuteronen, um Strukturinformationen zu erhalten. Das Konzept beruht auf dem verhältnismäßig einfachen Austausch von stickstoff- oder sauerstoffgebundenen Protonen gegen Deuteronen, der meist in deuterierten, protischen Lösungsmitteln mehr oder weniger schnell erfolgt. Unter diesen Bedingungen tauschen jedoch kohlenstoffgebundene, aromatische und aliphatische Protonen in der Regel nicht aus, und die Wasserstoffpositionen können in zwei Gruppen unterteilt und spektroskopisch getrennt untersucht werden. Das Deuteron ist ein Spin-1-Kern und besitzt deshalb eine Quadrupolkopplung. Während in der Vergangenheit Deuteronen genutzt wurden, um über die Quadrupolkopplung Informationen beispielsweise über dynamische Prozesse zu gewinnen, so besteht nun die Aufgabe darin, Pulssequenzen zu entwickeln, mit denen die gleichen Experimente, nämlich Abstandsmessungen und chemische Verschiebungskorrelationen, möglich sind, wie sie für Spin-1/2-Kerne etabliert wurden.

Die genaue Messung und theoretische Berechnung der Quadrupolkopplungen in wasserstoffverbrückten Systemen nach wie vor nicht einfach. Quadrupolkopplungen geben Aufschluss über den Gradienten des elektrischen Felds am Ort des Kerns und reagieren damit auch sensitiv auf die strukturelle Umgebung. Untersuchungen am Beispiel von Deuteronen in Wasserstoffbrücken finden sich in [Zhao 02]. Die einfachste und oft genaueste Methode, eine Deuteron-Quadrupolkopplung zu messen, ist über das statische Spektrum. Das funktioniert in der Regel nur für Verbindungen, die genau an einer Stelle selektiv deuteriert und daher häufig aufwendig zu synthetisieren sind. **Kapitel 7** widmet sich der Bestimmung von Quadrupol-

kopplungen in mehrfach deuterierten Verbindungen und gleichzeitig deren Berechnung mit Hilfe quantenchemischer Methoden.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Quantenmechanische Beschreibung von Spinsystemen

Der Zustand eines Systems wird in der Quantenmechanik allgemein durch eine Wellenfunktion Ψ beschrieben, welche Lösungen der zeitabhängigen Schrödinger-Gleichung

$$\frac{d}{dt}\Psi(t) = -i\hat{H}\Psi(t) \tag{2.1}$$

sind. Die Wechselwirkungen des Systems werden durch den Hamilton-Operator $\hat{\boldsymbol{H}}$ ausgedrückt, welcher in der NMR-Literatur üblicherweise in Einheiten der Kreisfrequenz (s^{-1}) angegeben wird. In NMR-Experimenten wird die Gesamtmagnetisierung gemessen, welche aus dem Ensemble der Kernspins resultiert. Der Zustand dieses Ensembles wird quantenmechanisch durch einen statistischen Operator, den Dichteoperator $\hat{\rho}$ wiedergegeben.

$$\hat{\rho} = \overline{|\Psi\rangle\langle\Psi|} \tag{2.2}$$

Der Dichteoperator wird meist in seiner Matrixdarstellung verwendet.

$$\hat{\rho}_{ij}(t) = \langle i|\hat{\rho}(t)|j\rangle = \overline{c_i^*(t)c_j(t)} \tag{2.3}$$

Mit $|i\rangle$ werden die Eigenfunktionen zum Kern-Hamilton-Operator $\hat{\boldsymbol{H}}$ bezeichnet. Die Diagonalelemente $\hat{\rho}_{ii}$ geben die Wahrscheinlichkeit an, mit der sich das System im Eigenzustand $|i\rangle$ befindet. Die Außerdiagonalelemente $\hat{\rho}_{ij}$, die auch als Kohärenzen bezeichnet werden, geben die Wahrscheinlichkeit an, mit der sich das System in der Überlagerung der Zustände $|i\rangle$ und $|j\rangle$ befindet. Der Erwartungswert einer Observablen $\hat{A}$ ist im statistischen Bild gegeben durch die Spur des Produktes mit der Dichtematrix.

$$\langle\hat{A}\rangle = \mathrm{Tr}\{\hat{\rho}\hat{A}\} \tag{2.4}$$

Die Wechselwirkungen, denen das System unterliegt, werden durch den Hamiltonoperator $\hat{\boldsymbol{H}}$ beschrieben und die zeitliche Entwicklung des Zustands unter diesen Wechselwirkungen liefert die Liouville-von-Neumann-Gleichung

$$\frac{\partial \hat{\rho}(t)}{\partial t} = -i\left[\hat{H}, \hat{\rho}(t)\right]. \tag{2.5}$$

Die allgemeine Lösung dieser Gleichung lautet

$$\hat{\rho}(t) = \hat{U}(t)\hat{\rho}(0)\hat{U}^{-1}(t) \tag{2.6}$$

Die $\hat{U}(t)$ werden als Propagatoren bezeichnet. Für den einfachen Fall eines zeitunabhängigen Hamiltonoperators sind die Propagatoren $\hat{U}(t) = \exp\left(-i\hat{H}t\right)$ und somit

$$\hat{\rho}(t) = \exp\left(-i\hat{H}t\right)\hat{\rho}(0)\exp\left(i\hat{H}t\right) \tag{2.7}$$

In Kapitel 3.1 wird mit der Average Hamiltonian Theory eine Methode zur Behandlung von zeitabhängigen Hamiltonoperatoren eingeführt.

2.2 Wechselwirkungen in der NMR

NMR-Experimente geben Aufschluss über Wechselwirkungen, welchen die beobachteten Kernspins unterliegen. Die wichtigsten Wechselwirkungen in der Festkörper-NMR sind die Zeemann-Aufspaltung, die chemische Verschiebung, die Dipol-Dipol-Kopplung, die Quadrupolkopplung und die Wechselwirkung mit Radiofrequenz-Pulsen. Die relativ schwache J-Kopplung tritt im Allgemeinen nur in der Flüssig-NMR oder der hochaufgelösten Festkörper-NMR (HRMAS, High Resolution Magic-Angle Spinning) in Erscheinung, bei denen sich die stärkere Dipol-Dipol-Kopplung durch schnelle Molekülbewegung ausmittelt. Bei den Systemen, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht worden sind, spielt die J-Kopplung keine Rolle und wird im Folgenden vernachlässigt. Die einzelnen Wechselwirkungen werden quantenmechanisch durch Hamiltonoperatoren beschrieben:

$$\hat{H} = \hat{H}_Z + \hat{H}_{CS} + \hat{H}_D + \hat{H}_Q + \hat{H}_{RF} \tag{2.8}$$

Die Darstellung der Hamiltonoperatoren kann allgemein durch ein bilineares Produkt folgender Form geschehen [Mehring 83]:

$$\hat{H} = \underline{\hat{\mathrm{I}}} \cdot \underline{\underline{\mathrm{A}}} \cdot \underline{\hat{\mathrm{S}}} = \left(\hat{I}_x, \hat{I}_y, \hat{I}_z\right)\begin{pmatrix} A_{xx} & A_{xy} & A_{xz} \\ A_{yx} & A_{yy} & A_{yz} \\ A_{zx} & A_{zy} & A_{zz} \end{pmatrix}\begin{pmatrix} \hat{S}_x \\ \hat{S}_y \\ \hat{S}_z \end{pmatrix} \tag{2.9}$$

Die Anisotropie der Wechselwirkungen wird durch den Tensor zweiter Stufe $\underline{\underline{A}}$ beschrieben, welcher in einen isotropen, einen antimetrischen und einen symmetrischen Anteil zerlegt werden kann:

$$\underline{\underline{A}} = a \cdot \underline{\underline{1}} + \begin{pmatrix} 0 & b & c \\ -b & 0 & d \\ -c & -d & 0 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} e & g & h \\ g & f & i \\ h & i & -e-f \end{pmatrix} \tag{2.10}$$

Der isotrope Anteil a berechnet sich zu $a = \frac{1}{3}\mathrm{Tr}\{\underline{\underline{A}}\}$.

Die Handhabbarkeit der Hamilton-Operatoren kann durch zwei Transformationen vereinfacht werden. Zum einen können die Tensoren nicht nur in kartesischer Form, sondern auch in sphärischen Koordinaten dargestellt werden. Zum anderen kann der Hamilton-Operator in einen Ortsteil $A = A_0 + A_1 + A_2$ und einen Spinteil $\hat{T} = \hat{T}_0 + \hat{T}_1 + \hat{T}_2$ zerlegt werden. Die A_L und $\hat{T}_L$ zerfallen ihrerseits in (2L+1) Komponenten, welche wie die Kugelflächenfunktionen $Y_{L,M}$ transformieren. In Kombination lautet die vollständige, irreduzible Darstellung des Hamilton-operators in sphärischen Koordinaten:

$$\hat{H} = \sum_{L=0}^{2} A_L \hat{T}_L = \sum_{L=0}^{2} \sum_{M=-L}^{+L} (-1)^M A_{L,M} \hat{T}_{L,-M} \tag{2.11}$$

Der Vorteil an dieser Darstellung ist, dass mechanische Rotationen, wie das MAS, nur auf den Ortsteil wirken, während Radiofrequenz-Pulse nur den Spinanteil beeinflussen. Eine ausführliche Beschreibung der Transformationen zwischen den verschiedenen Darstellungen findet sich in [Rose 59].

2.2.1 Die Zeemann-Wechselwirkung und die Säkularnäherung

Unter der Zeemann-Wechselwirkung versteht man die Aufspaltung der sonst entarteten Energieniveaus eines Kernspins in einem statischen Magnetfeld B_0. Die Anzahl der Energieniveaus ist vom Kernspin I abhängig. Es existieren 2I+1 Energieniveaus, die durch die magnetische Kernspinquantenzahl m = -I, -I+1, ..., I unterschieden werden. Die Magnetfeld-Achse wird üblicherweise als z-Achse des Laborsystems definiert und der Hamilton-Operator der Zeemann-Wechselwirkung lautet

$$\hat{H}_z = -\gamma \hbar B_0 \hat{I}_z. \tag{2.12}$$

γ ist das gyromagnetische Verhältnis des betrachteten Kerns. Die Energie der durch m charakterisierten Zustände berechnet sich zu

$$E_m = -m\hbar\gamma B_0 \tag{2.13}$$

Für Kerne mit Spin I=1/2 (zum Beispiel ^{1}H, ^{13}C und ^{15}N) ist die Energieaufspaltung $\Delta E = \hbar\gamma B_0 = \hbar\omega_L$. Die Kreisfrequenz ω_L wird als Larmor-Frequenz bezeichnet. Die Magnetfeldstärke der Spektrometer wird üblicher mit Hilfe der Larmor-Frequenz für Protonen angegeben. Eine Larmor-Frequenz von 700 MHz entspricht einer Feldstärke von 16.4 T.
Die zeitabhängige Behandlung der Wechselwirkungen nach Gl. (2.7) ist sehr aufwendig, so dass Näherungen gesucht werden, welche die mathematische Handhabung vereinfachen. Eine wichtige Vereinfachung in der NMR ist die **Säkularnäherung**. Sie beschreibt die Separation der Zeemann-Wechselwirkung $\hat{H}_Z$ von den übrigen Wechselwirkungen $\hat{H}'$ im Sinne von $\exp(i(\hat{H}_Z + \hat{H}')t) = \exp(i\hat{H}_Z t)\cdot\exp(i\hat{H}'t)$. Als Konsequenz dieser Näherung werden alle Kommutatoren $\left[\hat{H}_{Z,}\hat{H}_\Lambda\right]$ von Wechselwirkungen $\hat{H}_\Lambda$ mit der Zeemann-Wechselwirkung $\hat{H}_Z$ vernachlässigt, wodurch bei der Berechnung von Hamiltonoperatoren nur die Terme berücksichtigt werden müssen, welche mit $\hat{H}_Z$ kommutieren. Der Hamiltonoperator einer Wechselwirkung in sphärischer Tensordarstellung (Gl. (2.11)) vereinfacht sich in der Säkularnäherung zu:

$$\hat{H}_\Lambda = A_{00}\hat{T}_{00} + A_{10}\hat{T}_{10} + A_{20}\hat{T}_{20} \tag{2.14}$$

Eine anschauliche Betrachtung dieses Formalismus stellt die Einführung eines mit der Larmor-Frequenz ω_L rotierenden Koordinatensystems dar, welches in vielen NMR-Lehrbüchern ausführlich beschrieben wird (beispielsweise in [Levitt 01]). Die weitere mathematische Behandlung in dieser Arbeit findet im rotierenden Koordinatensystem statt, ohne dies explizit zu kennzeichnen, wie es auch in der NMR-Literatur üblich ist. Die Säkularnäherung ist im Allgemeinen dann anwendbar, wenn die externe Wechselwirkung mit dem statischen Magnetfeld um Größenordnungen stärker ist als alle anderen (lokalen) Wechselwirkungen, was für alle in dieser Arbeit untersuchten Systeme gilt.

2.2.2 Die chemische Verschiebung

Das externe statische Magnetfeld wird durch die Elektronenhülle, die einen Kern umgibt, abgeschirmt. Genauer gesagt, das externe Magnetfeld induziert eine Bewegung der Elektronen, welche dadurch selbst lokale Magnetfelder induzieren, die dem externen Magnetfeld

entgegenwirken. Dieser Abschirmungseffekt wird durch den chemischen Verschiebungstensor $\underline{\underline{\sigma}}$ beschrieben.

$$\hat{H}_{CS} = \gamma \underline{\hat{I}} \cdot \underline{\underline{\sigma}} \cdot \underline{B}_0 \tag{2.15}$$

$\underline{B}_0$ ist der Vektor des äußeren Magnetfeldes (0, 0, B_0). Die chemische Verschiebung ist im Allgemeinen anisotrop und von der lokalen Elektronendichte, also der chemischen Umgebung, eines Kerns abhängig. Der chemische Verschiebungstensor lässt sich gemäß Gl. (2.10) in einen isotropen, einen symmetrischen und einen antisymmetrischen Teil zerlegen, wobei in der Säkularnäherung der antisymmetrische Beitrag wegfällt und der symmetrische Beitrag durch Transformation in das Hauptachsensystem der Wechselwirkung diagonalisiert werden kann:

$$\underline{\underline{\sigma}} = \sigma_{iso} + \delta_{CS} \begin{pmatrix} -\frac{1+\eta_{CS}}{2} & 0 & 0 \\ 0 & -\frac{1-\eta_{CS}}{2} & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \tag{2.16}$$

mit der isotropen chemischen Verschiebung σ_{iso}, dem Anisotropieparameter $\delta_{CS} = \omega_L(\sigma_{zz} - \sigma_{iso})$ und dem Asymmetrieparameter $\eta_{CS} = (\sigma_{yy} - \sigma_{xx})/(\sigma_{zz} - \sigma_{iso})$.

Die isotrope chemische Verschiebung ist orientierungsunabhängig und wird in der Regel relativ zu der isotropen chemischen Verschiebung einer geeigneten Referenzsubstanz in ppm angegeben:

$$\delta[ppm] = \frac{\omega - \omega^{ref}}{\omega^{ref}} \tag{2.17}$$

Die chemische Verschiebungsanisotropie (CSA, Chemical Shift Anisotropy) ist von der Orientierung der Magnetfeldachse im Hauptachsensystem abhängig. Ausgedrückt mit den Polarwinkeln θ und ϕ ergibt sich für die Resonanzfrequenzen

$$\omega_{CS} = \frac{\delta_{CS}}{2}\left(3\cos^2\theta - 1 - \eta_{CS}\sin^2\theta\cos 2\phi\right). \tag{2.18}$$

Die CSA wird in isotropen Flüssigkeiten durch schnelle Molekülbewegung ausgemittelt. Im Festkörper fehlt diese Bewegung, und die CSA kann zu einer erheblichen Linienverbreiterung führen.

2.2.3 Die Dipol-Dipol-Kopplung

Kernspins besitzen ein magnetisches Dipolmoment μ_i, welches lokale Magnetfelder erzeugt und dadurch mit anderen Kernspins in Wechselwirkung treten kann. In der Matrixrepräsentation lautet der Hamilton-Operator für die Dipol-Dipol-Kopplung

$$\hat{H}_D^{(ij)} = \underline{\hat{I}}^{(i)} \cdot \underline{\underline{D}}^{(ij)} \cdot \underline{\hat{I}}^{(j)} \tag{2.19}$$

mit dem Kopplungstensor $\underline{\underline{D}}^{(ij)}$, der im Hauptachsensystem der Wechselwirkung die Form

$$\underline{\underline{D}}^{(ij)} = -2D_{ij} \begin{pmatrix} -1/2 & 0 & 0 \\ 0 & -1/2 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \tag{2.20}$$

annimmt und der dipolaren Kopplungskonstante D_{ij}, die von den gyromagnetischen Verhältnissen γ_i und γ_j und dem Abstand r_{ij} der beteiligten Kernspins abhängt.

$$D_{ij} = \frac{\mu_0 \hbar \gamma_i \gamma_j}{4\pi r_{ij}^3} \tag{2.21}$$

Wird der Hamilton-Operator in das durch $\hat{B}_0 \parallel z$ definierte Laborsystem transformiert und die Säkularnäherung angewendet, so können die Hamilton-Operatoren für die homonukleare und die heteronukleare Dipol-Dipol-Kopplung formuliert werden:

$$\hat{H}_{D,\text{homo}}^{(ij)} = -D_{ij} \frac{1}{2}\left(3\cos^2\theta - 1\right)\left(3\hat{I}_z^i \hat{I}_z^j - \underline{\hat{I}}^i \underline{\hat{I}}^j\right) \tag{2.22}$$

$$\hat{H}_{D,\text{hetero}}^{(ij)} = -D_{ij} \frac{1}{2}\left(3\cos^2\theta - 1\right) 2\hat{I}_z^i \hat{S}_z^j \tag{2.23}$$

Die Operatoren $\hat{I}$ und $\hat{S}$ werden üblicherweise zur Bezeichnung unterschiedlicher Kernsorten verwendet. θ ist der Winkel zwischen dem Kern-Kern-Vektor und dem Magnetfeld. Für den so genannten „Magischen Winkel“ $\theta_M = 54.7°$ nimmt die Dipol-Dipol-Kopplung den Wert Null an, was sich in der Festkörper-NMR durch die schnelle Probenrotation am Magischen Winkel zu Nutze gemacht wird (siehe Kapitel 3.1).

Gleichung (2.21) zeigt die Abhängigkeit der Dipol-Dipol-Kopplung vom Abstand r_{ij} der beiden Kerne. Die in dieser Arbeit verwendeten Methoden zielen darauf ab, die Dipol-Dipol-Kopplung zwischen zwei Kernen selektiv zu messen und dadurch auf deren Abstand zu schließen.

2.2.4 Die Quadrupolkopplung

Die Quadrupolkopplung beschreibt die Wechselwirkung des elektrischen Quadrupolmoments eines Kerns mit dem elektrischen Feldgradienten am Ort des Kerns. Nur Kerne mit Spin $I \geq 1$ besitzen ein Quadrupolmoment. Der allgemeine Hamiltonoperator lautet

$$\hat{H}_Q = \underline{\hat{I}} \cdot \underline{\underline{Q}} \cdot \underline{\hat{I}} \tag{2.24}$$

mit dem quadrupolaren Kopplungstensor

$$\underline{\underline{Q}} = \frac{eQ}{2I(2I-1)\hbar} \cdot \underline{\underline{V}} \tag{2.25}$$

$e \cdot Q$ ist das Produkt aus Elementarladung und Kern-Quadrupolmoment und $\underline{\underline{V}}$ der Tensor des elektrischen Feldgradienten am Kernort. Im Hauptachsensystem der Quadrupolwechselwirkung lässt sich der quadrupolare Kopplungstensor diagonalisieren:

$$\underline{\underline{Q}} = \delta_Q \begin{pmatrix} -\frac{1+\eta_Q}{2} & 0 & 0 \\ 0 & -\frac{1-\eta_Q}{2} & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \tag{2.26}$$

mit dem Asymmetrieparameter η_Q und dem Anisotropieparameter

$$\delta_Q = \frac{3}{2} \cdot \frac{e^2 qQ}{2I(I-1)\hbar} \tag{2.27}$$

Mit $e \cdot q$ wird der elektrische Feldgradient beschrieben. Die quadrupolare Frequenz nach Säkularnäherung ist in polaren Koordinaten des Laborsystems gegeben durch

$$\omega_Q = \frac{\delta_Q}{2}\left(3\cos^2\theta - 1 + \eta_Q \sin^2\theta \cos 2\phi\right). \tag{2.28}$$

Die Quadrupolkopplung wird allgemein in Form der Konstanten $C_Q = e^2 Qq / h$ angegeben. Im Falle der Deuteronen-NMR wird jedoch häufig $\delta_Q / 2\pi$ als quadrupolare Kopplungskonstante

angegeben und diese wird auch in dieser Arbeit verwendet. Die Umrechnung mit I=1 für Deuteronen geschieht nach $\delta_Q / 2\pi = 3C_Q / 4$.

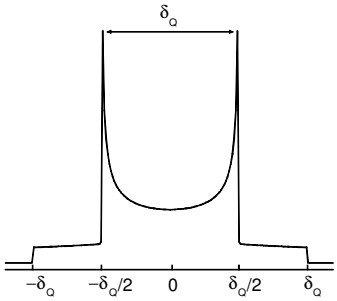


Abbildung 2.1: Statisches Pake-Pattern für eine ^{2}H-Quadrupolkopplung mit η=0.

In Abbildung 2.1 ist ein statisches, pulvergemitteltes Spektrum von einer Quadrupolkopplung gezeigt, ein so genanntes Pake-Pattern [Pake 48]. Ein solches pulvergemitteltes Spektrum wird bei isotropen polykristallinen Proben beobachtet. Der Frequenzabstand zwischen den beiden Singularitäten ist genau $\delta_Q / 2\pi$, was im Falle einer C–^{2}H-Bindung etwa 125 kHz sind.

Die Quadrupolkopplung ist die stärkste lokale Wechselwirkung. Bei den meisten Quadrupol-Kernen ist sie im MHz-Bereich und damit so groß, dass die Säkularnäherung nicht mehr anwendbar ist.

2.2.5 Die Wirkung von Radiofrequenzpulsen

In der Magnetresonanz werden Spinsysteme gezielt durch das Einstrahlen von Radiofrequenzpulsen (RF-Pulsen) beeinflusst. Durch die Zeemann-Wechselwirkung spalten die Zustände eines Spins I in $(2I+1)$ äquidistante Energieniveaus auf. In der Fourier-Transform-NMR werden Übergänge zwischen diesen Niveaus durch kurze, resonante Pulse induziert. Die Einstrahlrichtung des magnetischen Wechselfeldes $\underline{B}_1$ liegt senkrecht zum statischen Feld $\underline{B}_0$, also in der xy-Ebene des Laborsystems. Seine Feldstärke ist wesentlich kleiner als die des statischen Feldes, jedoch in der Regel größer als die der internen Wechselwirkungen mit Ausnahme der Quadrupolkopplung. Im Bild des rotierenden Koordinatensystems ist das $\underline{B}_1$-Feld statisch (im Falle einer resonanten Einstrahlfrequenz), wodurch die mathematische Behandlung stark vereinfacht wird. Anschaulich gesprochen präzedieren die resonanten Spins um die $\underline{B}_1$-Achse entsprechend ihrem gyromagnetischen Verhältnis mit der Frequenz $\omega_1 = \gamma B_1$. Der Drehwinkel α ist gegeben durch $\alpha = \omega_1 \cdot t$. In der NMR- Literatur werden die am häufigsten benutzten Pulse, deren Feld entlang der x, -x, y, -y – Achsen liegt entsprechend als x, -x, y, -y – Pulse bezeichnet.

Im Dichtematrix-Formalismus (Gl. (2.7)) lautet die Wechselwechselwirkung mit RF-Pulsen am Beispiel eines y-Pulses mit dem Hamilton-Operator $\hat{H}_{RF} = \alpha \hat{I}_y$:

$$\rho(t) = \exp\left(-i\alpha\hat{I}_y\right)\rho(0)\exp\left(i\alpha\hat{I}_y\right). \tag{2.29}$$

Gleichung (2.29) beschreibt eine Drehung im Spinraum. Ein einfaches Beispiel ist die Wirkung eines y-Pulses auf die Gleichgewichtsmagnetisierung $\hat{I}_z$:

$$\hat{I}_z \xrightarrow{\alpha\hat{I}_y} \hat{I}_z \cos\alpha + \hat{I}_x \sin\alpha \tag{2.30}$$

Die Drehrichtung ist prinzipiell eine frei wählbare mathematische Definition. In dieser Arbeit wird die Konvention eines rechtshändigen Koordinatensystems verwendet [Levitt 01].

Tabelle 2.1: Wirkung von Hamiltonoperatoren $\alpha\hat{I}_{\beta_1}$ auf Spinzustände $\hat{I}_{\beta_2}$ mit $\beta_{1,2} = x, y, z$.

	Spinzustand $\rho(0)$		
Hamilton-Operator $\hat{H}$	$\hat{I}_x$	$\hat{I}_y$	$\hat{I}_z$
$\alpha\hat{I}_x$	$\hat{I}_x$	$\hat{I}_y \cos\alpha + \hat{I}_z \sin\alpha$	$\hat{I}_z \cos\alpha - \hat{I}_y \sin\alpha$
$\alpha\hat{I}_y$	$\hat{I}_x \cos\alpha - \hat{I}_z \sin\alpha$	$\hat{I}_y$	$\hat{I}_z \cos\alpha + \hat{I}_x \sin\alpha$
$\alpha\hat{I}_z$	$\hat{I}_x \cos\alpha + \hat{I}_y \sin\alpha$	$\hat{I}_y \cos\alpha - \hat{I}_x \sin\alpha$	$\hat{I}_z$

In Tabelle 2.1 sind die Wirkungen der einzelnen Hamiltonoperatoren auf verschiedene Spinzustände in der Konvention des rechtshändigen Koordinatensystems zusammengestellt. Diese Formeln sind nicht nur für RF-Pulse anwendbar, es können im Rahmen des Produktoperator-Formalismus [Sorensen 83] viele Wechselwirkungen beschrieben werden.

3 Magic-Angle Spinning (MAS) und Recoupling Methoden

3.1 Probenrotation am Magischen Winkel

Im vorangegangenen Kapitel wurde diskutiert, wie ein Spinsystem durch Radiofrequenzpulse beeinflusst werden kann. Die Manipulation geschieht dabei ausschließlich im Spinraum. In diesem Kapitel wird gezeigt, wie ein Spinsystem durch eine Rotation der Probe auch im Ortsraum beeinflusst werden kann. Durch die Separation der Hamiltonoperatoren in Orts- und Spinanteile nach Gl. (2.11) ist die mathematische Behandlung der zeitlichen Entwicklung von Spinsystemen erleichtert, da die Probenrotation nur im Ortsraum wirkt, während die Spinwechselwirkungen und die RF-Pulse nur den Spinraum beeinflussen.
Anisotrope Wechselwirkungen, wie die Dipol-Dipol-Kopplung, die Quadrupolkopplung und die chemische Verschiebungsanisotropie, zeigen eine Orientierungsabhängigkeit, welche sich durch schnelle Probenrotation bis auf die Orientierung entlang der Rotationsachse ausmittelt. Die verbleibende Wechselwirkung ist proportional zum zweiten Legendre-Polynom $P_2(\theta) = \frac{1}{2}(3\cos^2\theta - 1)$ (siehe Gl.(2.18),(2.22),(2.23) und (2.28)). Für den „magischen Winkel“ $\theta_M = 54.7°$ nimmt $P_2(\theta)$ den Wert Null an, weshalb die Rotationsachse zweckmäßig genau diesen magischen Winkel mit dem Magnetfeld einnimmt. Diese im folgenden als MAS (Magic-Angle Spinning) bezeichnete Technik bewirkt eine erhebliche Linienverschmälerung in Festkörper-NMR-Spektren und ist Ende der 1950er Jahre von Andrew und Lowe eingeführt worden [Andrew 58, Andrew 59, Lowe 59]. Sie wird heutzutage standardmäßig zur Erhöhung der spektralen Auflösung eingesetzt. Die Wechselwirkung mittelt sich jedoch nur dann vollständig aus, wenn die Rotationsfrequenz ν_R deutlich größer als die Frequenz der Wechselwirkung ν_Λ ist ($\nu_R \gg \nu_\Lambda$). Das ist jedoch in der Praxis oft nicht der Fall, weshalb die Entwicklung zu immer schnelleren Drehfrequenzen voranschreitet. Kommerziell erhältlich sind Rotoren mit einem Außendurchmesser von 2.5 mm, die bis maximal 35 kHz gedreht werden können. In der Literatur wird von Rotationsfrequenzen bis zu 70 kHz berichtet [Ernst 04].

Im Folgenden wird die mathematische Behandlung des MAS diskutiert, wobei die in Kapitel 2 eingeführte sphärische Tensordarstellung von Hamiltonoperatoren zum Einsatz kommt. Gleichung (2.14) gibt den allgemeinen Hamiltonoperator in der Säkularnäherung wieder. Für die interessierenden Wechselwirkungen Dipol-Dipol-Kopplung, Quadrupolkopplung und chemische Verschiebungsanisotropie ist der Term $A_{10}\hat{T}_{10} = 0$ und die Gleichung vereinfacht sich zu:

$$\hat{H}_{\Lambda} = A_{00}\hat{T}_{00} + A_{20}\hat{T}_{20}. \tag{3.1}$$

Durch das MAS werden die Ortsanteile A_{pq} explizit zeitabhängig. Folglich ist Gl. (2.7) keine Lösung der Liouville-von-Neumann-Gleichung mehr, da diese nur für zeitunabhängige Hamiltonoperatoren gilt. Eine Möglichkeit zur Behandlung zeitabhängiger Hamiltonoperatoren ist die Average Hamiltonian Theory (AHT), die sich bei zyklischen Problemen wie Rotationen bewährt hat. Im Falle des MAS wird ein mittlerer Hamiltonoperator $\hat{\bar{H}}$ über eine Rotorperiode τ_R ausgerechnet, der dann zeitunabhängig ist und entsprechend dem konkreten Problem mehrfach hintereinander angewendet werden kann. Der Propagator für N Rotorperioden lautet dann:

$$\hat{U}\left(N\tau_R\right) = \exp\left(-i\hat{\bar{H}}N\tau_R\right) \tag{3.2}$$

Das Problem bei der Berechnung des mittleren Hamiltonoperators ist, das der zeitabhängige Hamiltonoperator zu verschiedenen Zeitpunkten im Allgemeinen nicht mit sich selbst kommutiert und einfaches Summieren über Zeitintervalle τ_i nicht zum Ziel führt:

$$\hat{\bar{H}} \neq \tfrac{1}{\tau_R}\sum_i \hat{H}_i\tau_i \quad \text{,da } \left(\left[\hat{H}\left(t_1\right), \hat{H}\left(t_2\right)\right] \neq 0\right) \tag{3.3}$$

Zur Lösung des Problems kann der Propagator zu $\hat{\bar{H}}$ nach der Baker-Campbell-Hausdorf-Formel

$$\exp\left(\hat{B}\right)\exp\left(\hat{A}\right) = \exp\left\{\hat{B} + \hat{A} + \tfrac{1}{2}\left[\hat{B}, \hat{A}\right] + \tfrac{1}{12}\left(\left[\hat{B}, \left[\hat{B}, \hat{A}\right]\right] + \left[\hat{B}, \hat{A}\right], \hat{A}\right) + \ldots\right\} \tag{3.4}$$

in eine Reihe entwickelt werden. Für infinitesimal kleine Zeitintervalle τ_i geht die Summation in eine Integration über eine Rotorperiode über. Der Propagator wird in Form verschiedener Ordnungen geschrieben, die auch als Magnus-Reihe bezeichnet wird:

$$\hat{U}\left(t\right) = \exp\left(-iN\tau_R\left(\hat{\bar{H}}^{(0)} + \hat{\bar{H}}^{(1)} + \hat{\bar{H}}^{(2)} + \ldots\right)\right). \tag{3.5}$$

Die ersten drei Terme der Magnus-Reihe lauten:

$$\hat{\bar{H}}^{(0)} = \frac{1}{\tau_R}\int_0^{\tau_R} dt\hat{H}(t), \tag{3.6}$$

$$\hat{\bar{H}}^{(1)} = -\frac{i}{2\tau_R}\int_0^{\tau_R} dt_1 \int_0^{t_1} dt_2 \left[\hat{H}(t_1), \hat{H}(t_2)\right], \tag{3.7}$$

$$\hat{\bar{H}}^{(2)} = -\frac{1}{6\tau_R}\int_0^{\tau_R} dt_1 \int_0^{t_1} dt_2 \int_0^{t_2} dt_3 \left(\left[\hat{H}(t_1), \left[\hat{H}(t_2), \hat{H}(t_3)\right]\right] + \left[\hat{H}(t_3), \left[\hat{H}(t_2), \hat{H}(t_1)\right]\right]\right). \tag{3.8}$$

Die Gleichungen sind auf den ersten Blick sehr kompliziert, doch es kann gezeigt werden, dass der Kommutator $\left[\hat{H}(t_1), \hat{H}(t_2)\right]$ für inhomogene Wechselwirkungen, wie die Dipol-Dipol-Kopplung eines Spinpaars, die Quadrupolkopplung und die chemische Verschiebungsanisotropie, verschwindet [Maricq 79]. Im Vergleich dazu stehen die homogenen Wechselwirkungen, wie die Dipol-Dipol-Kopplung von Systemen mit drei oder mehr gekoppelten Spins, bei denen der Kommutator nicht verschwindet. Folglich trägt für inhomogene Wechselwirkungen nur der Term nullter Ordnung bei. Der mittlere Hamiltonoperator nullter Ordnung lautet in allgemeiner Form für eine Wechselwirkung Λ und eine Rotationsdauer t:

$$\hat{\bar{H}}_{\Lambda}^{(0)} = \frac{1}{t}\int_0^t \hat{H}_{\Lambda}(t')\,dt' = \hat{T}_{00}A_{00}^{LAB} + \hat{T}_{20}\frac{1}{t}\int_0^t A_{20}^{LAB}(\omega_R t')\,dt'. \tag{3.9}$$

Zur Berechnung des mittleren Hamiltonoperators ist die Kenntnis des Ortsteils A_{20}^{LAB} im Laborsystem in Abhängigkeit von der Rotorphase $\omega_R t$ nötig ($\omega_R = 2\pi/\tau_R$). Zu diesem Zweck muss der Wechselwirkungstensor vom Hauptachsensystem (PAS, Principle Axes System) in das Laborsystem (LAB) überführt werden. Dies geschieht schrittweise durch die Anwendung von Wignerschen Rotationsmatrizen mit den drei Raumwinkeln α, β und γ. Dabei wird der Tensor vom Hauptachsensystem zuerst in das Molekülsystem (MS), dann in das Rotorsystem (ROT) und schließlich in das Laborsystem überführt:

$$\mathrm{PAS} \xrightarrow[\text{Tensor Orientierung}]{(\alpha_{PM},\beta_{PM},\gamma_{PM})} \mathrm{MS} \xrightarrow[\text{Pulvermittel}]{(\alpha_{MR},\beta_{MR},\gamma_{MR})} \mathrm{ROT} \xrightarrow[\text{MAS}]{(\omega_R t,\beta_M,0)} \mathrm{LAB}$$

Die letzte Transformation beinhaltet die zeitabhängige Rotorstellung $\alpha_{RL} = \omega_R t$ und den magischen Winkel zwischen Drehachse und Magnetfeld. Für den Fall eines Zweispinsystems erfolgt die Transformation direkt vom PAS in das Rotorsystem und die gesamte Transformation lautet:

$$A_{20}^{LAB}(t) = \sum_{m=-2}^{2} A_{20}^{PAS} \underbrace{D_{0,m}^{(2)}(\alpha,\beta,\gamma)}_{\mathrm{PAS}\to\mathrm{ROT}} \underbrace{D_{m,0}^{(2)}(\omega_R t,\beta_M,0)}_{\mathrm{ROT}\to\mathrm{LAB}} = \sum_{m=-2}^{2} \underbrace{A_{20}^{PAS} d_{0,m}^{(2)}(\beta) e^{-im\gamma}}_{A_{20}^{ROT}} e^{-im\omega_R t} d_{m,0}^{(2)}(\beta_M) \tag{3.10}$$

Eine Beschreibung der Wignerschen Rotationsmatrizen findet sich in [Rose 59].

A_{20}^{LAB} lässt sich in Form einfacher trigonometrischer Funktionen darstellen. Für den Fall einer symmetrischen Wechselwirkung ($\eta_\Lambda = 0$), wie zum Beispiel der Dipol-Dipol-Kopplung oder vielen Quadrupolkopplungen gilt

$$A_{20}^{LAB}(t) = A_{20}^{PAS}\left[\tfrac{1}{2}\sin^2\beta\cos(2\omega_R t + 2\gamma) - \tfrac{1}{\sqrt{2}}\sin 2\beta\cos(\omega_R t + \gamma)\right] \tag{3.11}$$

Für die Dipol-Dipol-Kopplung und die Quadrupolkopplung gilt $\hat{T}_{00}A_{00}^{LAB} = 0$ und durch Einsetzen von Gl. (3.11) in Gl. (3.9) mit anschließender Integration ergibt sich für den mittleren Hamiltonoperator unter MAS

$$\hat{\bar{H}}_\Lambda(t) = \hat{T}_{20}A_{20}^{PAS}\frac{1}{t}\left[\frac{\sin^2\beta}{4\omega_R}\left(\sin(2\omega_R t + 2\gamma) - \sin 2\gamma\right) - \frac{\sin 2\beta}{\sqrt{2}\omega_R}\left(\sin(\omega_R t + \gamma) - \sin\gamma\right)\right]. \tag{3.12}$$

Werden die $\hat{T}_{20}$ und A_{20}^{PAS} der einzelnen Kopplungen eingesetzt, erhält man:

$$\hat{\bar{H}}_{D,hetero}^{ij}(t) = \Phi_{D_{ij}}^{\text{int}}(t)\,2\hat{I}_z\hat{S}_z\,\tfrac{1}{t} \tag{3.13}$$

$$\hat{\bar{H}}_{D,\text{homo}}^{ij}(t) = \tfrac{3}{2}\Phi_{D_{ij}}^{\text{int}}(t)\,2\sqrt{\tfrac{2}{3}}\hat{T}_{20}^{ij}\,\tfrac{1}{t} \tag{3.14}$$

$$\hat{\bar{H}}_Q(t) = \tfrac{3}{2}\Phi_Q^{\text{int}}(t)\sqrt{\tfrac{2}{3}}\hat{T}_{20}\,\tfrac{1}{t} \tag{3.15}$$

mit den integrierten Phasen:

$$\begin{aligned}\Phi_{D_{ij}}^{\text{int}}(t) &= D_{ij}\left[\frac{\sin^2\beta}{4\omega_R}\left(\sin(2\omega_R t + 2\gamma) - \sin 2\gamma\right) - \frac{\sin 2\beta}{\sqrt{2}\omega_R}\left(\sin(\omega_R t + \gamma) - \sin\gamma\right)\right]\\ \Phi_{Q,\eta=0}^{\text{int}}(t) &= \delta_Q\left[\frac{\sin^2\beta}{4\omega_R}\left(\sin(2\omega_R t + 2\gamma) - \sin 2\gamma\right) - \frac{\sin 2\beta}{\sqrt{2}\omega_R}\left(\sin(\omega_R t + \gamma) - \sin\gamma\right)\right]\end{aligned} \tag{3.16}$$

Für die chemische Verschiebungsanisotropie beziehungsweise die allgemeine Quadrupolkopplung ($\eta_Q \neq 0$) gelten analoge Gleichungen, deren integrierte Phasen $\Phi_{CSA}^{\text{int}}(t)$ und $\Phi_Q^{\text{int}}(t)$ durch den Asymmetrieparameter η sehr kompliziert sind und auf die an dieser Stelle nicht genauer eingegangen wird.

Für die Bewertung von Pulssequenzen interessiert die zeitliche Entwicklung eines transversalen Magnetisierungszustandes, beispielsweise $\hat{I}_x$, unter einer Wechselwirkung $\hat{\bar{H}}_\Lambda(t)$. Der allgemeine Ausdruck dafür lautet:

$$\hat{I}_x \xrightarrow{\hat{\bar{H}}_\Lambda(t),t} \hat{I}_x \cos\Phi_\Lambda(t) + \hat{W}\sin\Phi_\Lambda(t) \tag{3.17}$$

$\hat{W}$ ist der Zustand, in den sich das Spinsystem unter der Kopplung entwickelt, und $\Phi_\Lambda(t)$ wird als akquirierte Phase bezeichnet und darf nicht mit der integrierten Phase des Hamiltonoperators $\Phi_\Lambda^{\text{int}}(t)$ verwechselt werden. Für die einzelnen Wechselwirkungen gelten:

$$\begin{aligned}
&\Phi_{D,hetero} = \Phi_{D,hetero}^{\text{int}}, \quad \hat{W} = 2\hat{I}_y\hat{S}_z \\
&\Phi_{D,\text{homo}} = \tfrac{3}{2}\Phi_{D,\text{homo}}^{\text{int}}, \quad \hat{W} = 2\hat{I}_y^{(i)}\hat{I}_z^{(j)} + 2\hat{I}_y^{(j)}\hat{I}_z^{(i)}, \quad \hat{I}_x = \hat{I}_x^{(i)} + \hat{I}_x^{(j)} \\
&\Phi_Q = \tfrac{3}{2}\Phi_Q^{\text{int}}, \quad \hat{W} = i\left(\hat{T}_{21} + \hat{T}_{2-1}\right) \\
&\Phi_{CSA} = \omega_{iso}t + \Phi_{CSA}^{\text{int}}, \quad \hat{W} = \hat{I}_y
\end{aligned} \tag{3.18}$$

Wird für die Zeit t in obigen Gleichungen ein ganzzahliges Vielfaches einer Rotorperiode $N\tau_R$ eingesetzt, so wird die akquirierte Phase null. Theoretisch mittelt das MAS alle anisotropen Wechselwirkungen aus, und die Magnetisierung wird, bei Vernachlässigung von Relaxationseffekten, stets nach einer ganzen Rotorperiode vollständig refokussiert. Bei stroboskopischer Betrachtung des NMR-Signals, welches analog Gl (3.17) beschrieben werden kann, zu vollen Rotorperioden würde das Spektrum nach Fourier-Transformation genau eine Linie entsprechend der isotropen chemischen Verschiebung enthalten. Wird das NMR-Signal nicht stroboskopisch aufgenommen, so liefern die anisotropen Wechselwirkungen zusätzliche Modulationen. Diese Modulationen manifestieren sich nach der Fourier-Transformation in charakteristischen Rotationsseitenbanden, welche einen spektralen Abstand von genau der Rotationsfrequenz haben. Die Schärfe dieser Linien wird durch die T_2-Relaxation bestimmt, welche die Abnahme der von Rotorperiode zu Rotorperiode refokussierten Magnetisierung S mit $S(t) = S(0)\cdot\exp\left(-t/T_2\right)$ beschreibt.

3.2 Prinzip von Wiedereinkopplungssequenzen (Recoupling)

Im vorangegangenen Kapitel wurde gezeigt, wie durch schnelle Probenrotation anisotrope Wechselwirkungen ausgemittelt werden können und dadurch eine hohe spektrale Auflösung erreicht werden kann. Dieser Auflösungsgewinn geht jedoch auf Kosten von Informationen

über das Spinsystem, welche in den anisotropen Wechselwirkungen enthalten sind. Dipol-Dipol-Kopplungen sind abhängig vom Abstand der Spins untereinander und damit von der Geometrie auf molekularer Ebene. Quadrupolkopplungen geben Aufschluss über den elektrischen Feldgradienten am Ort des Kerns. Weiterhin sind die Wechselwirkungen abhängig von der Orientierungsverteilung und der Beweglichkeit der Moleküle in der Probe. Die Festkörper-NMR bietet die Möglichkeit, die verloren gegangenen Informationen durch Einstrahlen von RF-Pulsen zurückzuholen, ohne dabei auf den Auflösungsgewinn durch das MAS verzichten zu müssen. Dieser Vorgang wird als Wiedereinkopplung von Wechselwirkungen („Recoupling“) bezeichnet. Die Kunst beim Recoupling besteht in der Entwicklung von Pulssequenzen, die möglichst selektiv genau die Wechselwirkungen wiedereinkoppeln, die für eine bestimmte Fragestellung von Interesse sind und die anderen Wechselwirkungen, die in der Regel störend wirken würden, ausgemittelt lassen.

In den letzten zehn Jahren sind sehr viele Recoupling-Methoden entwickelt worden, welche die unterschiedlichsten Wechselwirkungen wiedereinkoppeln [siehe zum Beispiel: Gullion 97, deAzevedo 99, Lee 95, Dusold 00, Schnell 01, Carravetta 00], mit dem Ziel Informationen über die Struktur, Orientierung oder die Dynamik der untersuchten Systeme zu erhalten. Es kann grundsätzlich zwischen zwei Typen von Recoupling-Sequenzen unterschieden werden. Der erste Typ verwendet möglichst kurze Pulse in definierten Abständen, zwischen denen sich das Spinsystem frei entwickelt. Sie werden als „Laborsystemsequenzen“ bezeichnet. Der zweite Typ, die „Drehsystemsequenzen“ sind Methoden, die mit kontinuierlichen Pulsen arbeiten. Bildlich gesprochen wird die MAS-Drehung im Ortsraum durch eine kontinuierliche Drehung im Spinraum, verursacht durch das eingestrahlte Wechselfeld, ausgeglichen. Die Rotationsfrequenz im Spinraum $\omega_1 = \gamma B_1$ ist daher meist durch einen konstanten Faktor an die MAS-Frequenz gekoppelt. Bekannte Pulssequenzen dieses zweiten Typs sind die HORROR-Sequenz [Nielsen 94] und die C7-Sequenz [Lee 95].

Eine systematische Klassifizierung dieser Pulssequenzen nach Symmetrieregeln wurde von Levitt et al eingeführt. Eine sehr gute Zusammenfassung über diese Arbeiten findet sich in [Levitt 02]. Die Stärke dieser Klassifizierung ist, dass mit Hilfe einfacher Regeln (den „Space-Spin Selection Diagrams“) die Wirkung von einer gegebenen Pulssequenz unter den interessierenden Wechselwirkungen bewertet werden kann und die Entwicklung von neuen Pulssequenzen erleichtert ist, mit denen spezielle Fragestellungen gezielt angegangen werden können.

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden Wiedereinkopplungssequenzen des ersten Typs verwendet, die REDOR-Pulssequenz und die Back-to-Back-Pulssequenz, die in den Kapiteln 3.3 und 3.4 genauer beschrieben werden. Im Folgenden wird auf das allgemeine Prinzip der Recoupling-Sequenzen des ersten Typs eingegangen.

In Abbildung 3.1b sind die modulierten Terme unter MAS schematisch dargestellt. Es gibt zwei Terme mit Frequenzen von ω_R und $2\omega_R$ (vgl. Gl. (3.12)). Mit Plus und Minus sind die

Vorzeichen des Hamilton-Operators gegeben, die bei Abwesenheit von Pulsen direkt dem Vorzeichen der akquirierten Phasen entsprechen. Über eine volle Rotorperiode hinweg heben sich jeweils die akquirierten Phasen beider Terme auf und die gesamte akquirierte Phase wird null. Werden nun in Abständen von einer halben Rotorperiode Pulse eingestrahlt, welche den Spinanteil des Hamilton-Operators invertieren, so wird damit das Vorzeichen des Hamilton-Operators invertiert (Abbildung 3.1c). In diesem Fall mittelt sich der $2\omega_R$-modulierte Term weiterhin aus, der Hamilton-Operator des ω_R-modulierten Terms jedoch bleibt immer positiv und die Wechselwirkung wird dadurch wiedereingekoppelt. Eine solche Folge von Pulsen wird als ω_R-Recoupling bezeichnet. Analog kann durch Pulse mit $\tau_R/4$-Abstand ein $2\omega_R$-Recoupling formuliert werden, welches den ω_R-modulierten Term ausgemittelt lässt und den $2\omega_R$-modulierten Term wiedereinkoppelt (Abbildung 3.1d).

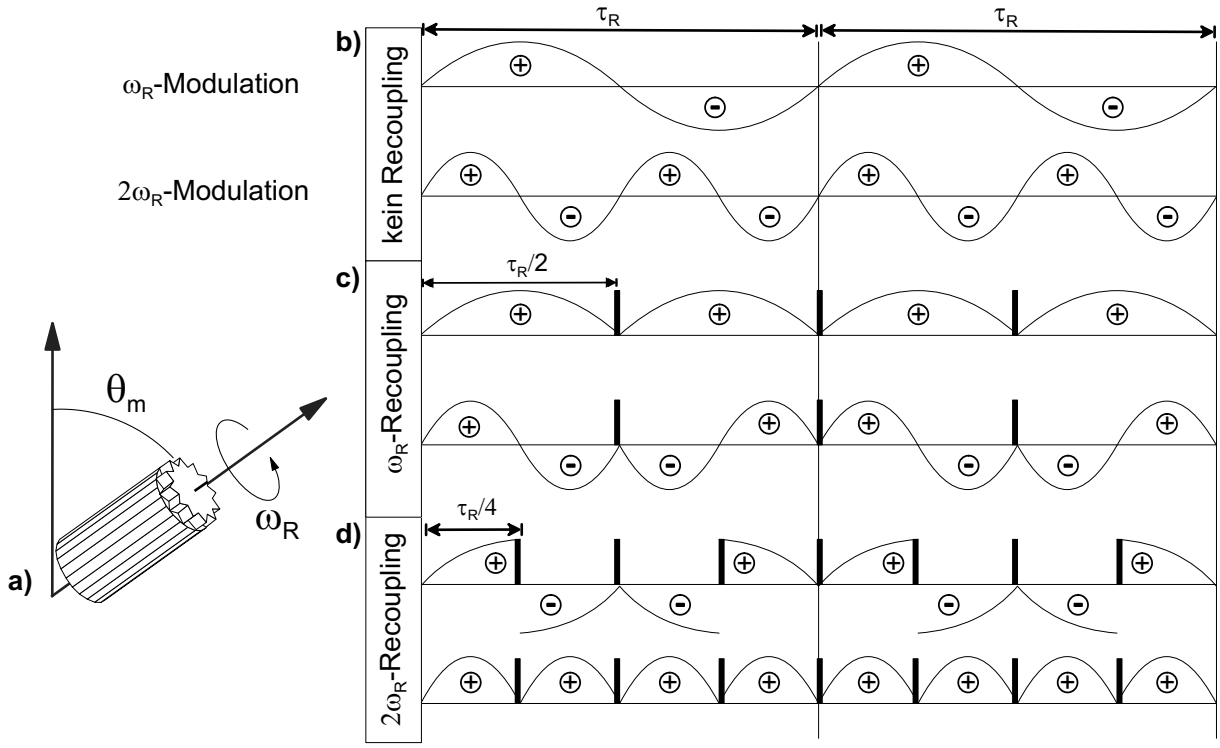


Abbildung 3.1: Modulationen unter MAS. a) Drehung des Rotors mit der Kreisfrequenz ω_R, b) schematische Darstellung des ω_R- und des $2\omega_R$-modulierten Terms ohne Recoupling-Pulse, c) ω_R-Recoupling mit einem Abstand der Inversionspulse von $\tau_R/2$ und d) ω_R-Recoupling mit einem Abstand der Inversionspulse von $\tau_R/4$. Die schwarzen Balken symbolisieren die Inversionspulse.

Das genaue Aussehen dieser Inversionspulse hängt von der Art der Wechselwirkung, in Form des Spinteils des Hamilton-Operators, ab. Die Pulse können so gewählt werden, dass sie selektiv den Hamiltonoperator bestimmter Wechselwirkungen invertieren. Bei der theoretischen Beschreibung dieser Pulssequenzen werden die Pulse häufig als unendlich kurze δ-Pulse approximiert, während die experimentelle Umsetzung nur mit Pulsen endlicher Länge geschehen kann. Gerade bei schnellem MAS ist der Abstand der Pulse relativ kurz. Eine halbe

Rotorperiode bei einer Drehfrequenz von 30 kHz dauert 16.7 µs, und die Länge von einem häufig verwendeten π-Puls liegt ungefähr bei 5 µs, was bedeutet, dass zu etwa 30% der Zeit gepulst wird. Es ist daher wichtig zu untersuchen, wie sich die Verletzung der δ-Puls-Approximation auf das Wiedereinkopplungsverhalten auswirkt. In der Regel sind zwei Fälle denkbar: zum einen kann die Effizienz der Wiedereinkopplung der interessierenden Wechselwirkungen abnehmen und zum anderen können auch Wechselwirkungen teilweise wiedereingekoppelt werden, die sich für δ-Pulse eigentlich ausmitteln sollten. Eine Untersuchung der Effekte endlicher Pulslängen für die in dieser Arbeit verwendeten Pulssequenzen findet sich in Kapitel 4.2.2.

3.3 Die REDOR-Pulssequenz

Die REDOR-Pulssequenz (Rotational-Echo Double-Resonance) wurde 1989 von Schäfer und Gullion [Gullion 89b, Gullion 89a] eingeführt und dient zur Wiedereinkopplung der heteronuklearen Dipol-Dipol-Kopplung. Die Pulssequenz ist schematisch in Abbildung 3.2 dargestellt.

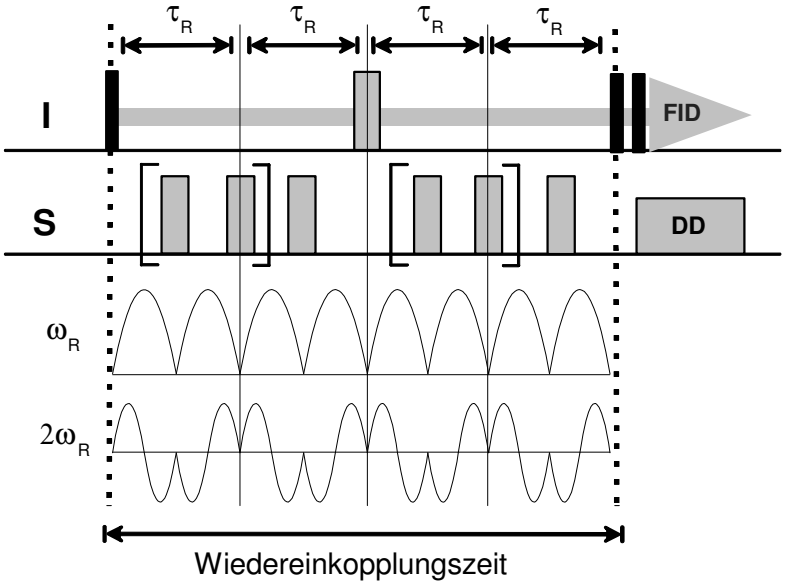


Abbildung 3.2: Die REDOR-Pulssequenz

Mit *I* und *S* sind die beiden Spinsorten bezeichnet. Im ersten Schritt wird mit einem π/2-Puls transversale *I*-Magnetisierung erzeugt, welche sich unter dem Einfluss der lokalen Wechselwirkung entwickelt. In der Folge wird ein Zug von π-Pulsen im Abstand einer halben Rotorperiode eingestrahlt, welche den ω_R-modulierten Term der heteronuklearen Dipol-Dipol-Kopplung wiedereinkoppeln. Das Verhalten der beiden Terme der Dipol-Dipol-Kopplung ist schematisch durch die Sinus-Bögen angedeutet. Für die heteronukleare Dipol-Dipol-Kopplung spielt es keine Rolle, ob der *I*- oder der *S*-Spin invertiert wird. Es werden jedoch

alle π-Pulse bis auf den zentralen auf dem passiven, nicht-detektierten *S*-Spin angewendet, was drei wichtige Vorteile hat. Zum einen wird die isotrope chemische Verschiebung der *I*-Spins refokussiert, wodurch eine Offsetabhängigkeit des detektierten Signals vermieden wird. Weiterhin wird durch dieses Muster eine Wiedereinkopplung der chemischen Verschiebungsanisotropie verhindert, welches durch die Anwendung aller π-Pulse auf dem gleichen Kanal bewirkt würde. Dieses könnte zu Störungen im Experiment führen, insbesondere wenn die Sequenz wie in Kapitel 4.2 als Baustein in komplexeren Pulssequenzen verwendet wird. Ein dritter Grund für die Anwendung der meisten π-Pulse auf den passiven Spins sind auch Pulsimperfektionen, die in der Praxis nicht zu vermeiden sind. Grundsätzlich sind Inversionen der transversalen Magnetisierung sehr kritisch und eine Anwendung von vielen, leicht fehlerhaften Inversionen hintereinander führt leicht zu einer erheblichen Abschwächung des Signals.

Nach dem π-Pulszug wird durch einen weiteren π/2-Puls auf dem *I*-Kanal die Magnetisierung in einem longitudinalen Zustand (||z) gespeichert und schließlich ausgelesen. Dieses Vorgehen wird häufig angewendet und als „z-Filter“ bezeichnet. Die Intensität des Signals S ist eine Funktion der Wiedereinkopplungszeit $N\tau_R$, die im Folgenden hergeleitet wird.

Der mittlere Hamilton-Operator wird zuerst für eine Rotorperiode berechnet und anschließend N-mal angewendet. Nach Gl. (3.13) ist die integrierte Phase der entscheidende zeitabhängige Beitrag, für die unter MAS mit der Abkürzung $\Phi_{\Lambda}^{\text{int}}\Big|_{t_1}^{t_2} = \Phi_{\Lambda}^{\text{int}}(t_2) - \Phi_{\Lambda}^{\text{int}}(t_1)$ allgemein gilt:

$$\Phi_{\Lambda}^{\text{int}}\Big|_{0}^{\tau_R/2} = -\Phi_{\Lambda}^{\text{int}}\Big|_{\tau_R/2}^{\tau_R} \tag{3.19}$$

Wird die Wechselwirkung nach jeweils einer halben Rotor-Periode invertiert, so wird effektiv auch die integrierte Phase invertiert:

$$\text{Unter } \omega_R\text{-Recoupling: } \Phi_{\Lambda}^{\text{int}}\Big|_{0}^{\tau_R/2} = \Phi_{\Lambda}^{\text{int}}\Big|_{\tau_R/2}^{\tau_R} \tag{3.20}$$

Daraus folgt für den mittleren Hamilton-Operator der heteronuklearen Dipol-Dipol-Kopplung (vgl. Gl. (3.13)) unter ω_R-Recoupling

$$\hat{\bar{H}}_{D,hetero}^{ij}(\tau_R) = \Phi_{D_{ij}}^{\text{int}}\Big|_{0}^{\tau_R} 2\hat{I}_z\hat{S}_z \tfrac{1}{t} \tag{3.21}$$

mit der integrierten Phase

$$\begin{aligned}\phi_{D_{ij}}^{\text{int}}\Big|_0^{\tau_R} &= 2\int_0^{\tau_R/2} D_{ij}\left[\tfrac{1}{2}\sin^2\beta\cos\left(2\omega_R t+2\gamma\right)-\tfrac{1}{\sqrt{2}}\sin 2\beta\cos\left(\omega_R t+\gamma\right)\right]dt \\ &= \frac{D_{ij}}{\omega_R}2\sqrt{2}\sin 2\beta\sin\gamma.\end{aligned} \tag{3.22}$$

Die Entwicklung der transversalen Magnetisierung $\hat{I}_x$ unter $\hat{\bar{H}}_{D,hetero}^{ij}$ kann nach Gl. (3.17) beschrieben werden:

$$\hat{I}_x \xrightarrow{\hat{\bar{H}}_{D,hetero},N\tau_R} \hat{I}_x\cos N\bar{\Phi}_0 + 2\hat{I}_z\hat{S}_z\sin N\bar{\Phi}_0 \tag{3.23}$$

Dabei ist für die akquirierte Phase Φ die Abkürzung

$$\bar{\Phi}_t = \Phi_{D,hetero}\left(t+\tau_R\right)-\Phi_{D,hetero}\left(t\right) \tag{3.24}$$

eingeführt worden. Für die heteronukleare Dipol-Dipol-Kopplung ist die akquirierte Phase $\Phi_{D,hetero}\left(t\right)$ gleich der integrierten Phase $\Phi_{D_{ij}}^{\text{int}}\left(t\right)$ (siehe Gl. (3.18)). Das detektierte Signal S in der in dargestellten Pulssequenz Abbildung 3.2 ist proportional zur nach Gl. (3.23) beschriebenen x-Magnetisierung:

$$S\left(N\tau_R\right) \sim \left\langle \cos\left(N\frac{D_{ij}}{\omega_R}2\sqrt{2}\sin 2\beta\sin\gamma\right)\right\rangle_{\beta,\gamma} \tag{3.25}$$

Mit den dreieckigen Klammern ist die Pulvermittelung über die Eulerwinkel β und γ angedeutet. Es können mit diesem Experiment nun Aufbaukurven gemessen werden. Dabei wird die Differenz zwischen Referenzsignal S(0), dem Signal ohne Wiedereinkopplung, und dem Signal mit Wiedereinkopplung $S(N\tau_R)$ in Abhängigkeit von der Zeit $N\tau_R$ gemessen. In Abbildung 3.3 ist eine berechnete Aufbaukurve für ein Zweispinsystem mit einer Dipol-Dipol-Kopplung von $D_{ij}/2\pi$=10 kHz bei einer MAS-Frequenz von 30 kHz gezeigt.
Die charakteristischen Merkmale sind das Anstiegsverhalten und die darauf folgenden Oszillationen. Aufbaukurven werden in der Literatur häufig gemessen, um aus ihnen durch Simulation die Dipol-Dipol-Kopplung zu extrahieren. In der Praxis treten jedoch einige Probleme auf (hauptsächlich Relaxation und Multispineffekte), die dazu führen, dass häufig überhaupt keine Oszillationen sichtbar sind und auch das Anstiegsverhalten nicht vollständig ist. Es können daher nur wenige experimentelle Datenpunkte durch die berechneten Kurven gefittet werden, was in der Regel recht ungenau und für präzise Abstandsmessungen ungeeignet ist. Im Kapitel 4 wird gezeigt, wie mit Experimenten, die auf der REDOR-Pulssequenz aufbauen

und Rotationsseitenbanden generieren, eine hohe Genauigkeit bei Abstandsmessungen erzielt werden kann.

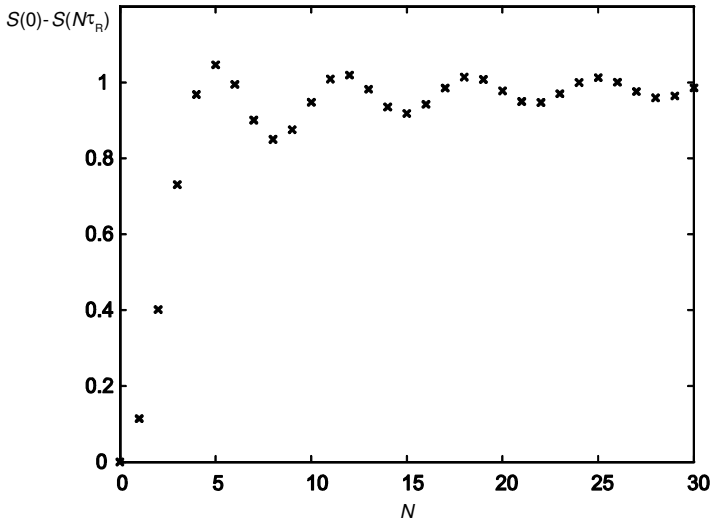


Abbildung 3.3: Berechnete REDOR-Aufbaukurve eines Zweispinsystems mit $D_{ij}/2\pi$=10 kHz und τ_R=33.3 µs.

Es gibt verschiedene Möglichkeiten für einen Phasenzyklus der REDOR-π-Pulse, um Pulsimperfektionen, chemische Verschiebungsanisotropie und Offsetabhängigkeiten zu kompensieren. Das (xy-4)-Schema [Gullion 90] hat sich dabei als nützlich erwiesen und wurde in dieser Arbeit für alle ^{15}N-^{1}H-Messungen verwendet.

3.4 Die Back-to-Back-Pulssequenz (BaBa)

Die Back-to-Back-Sequenz (BaBa-Sequenz) wurde von [Feike 96] eingeführt und bewirkt bei einem longitudinalen Ausgangszustand die Anregung von geradzahligen Mehrquanten-Zuständen. Die größte Anwendung haben dabei Doppelquantenzustände von homonuklear gekoppelten Spin-1/2-Systemen. Ein Übersichtsartikel hierzu findet sich in [Schnell 01]. Weiterhin können auch Spins mit schwachen Quadrupolkopplungen durch die BaBa-Sequenz in Mehrquanten-Zustände übergehen. Ein praktikables Beispiel ist die Erzeugung von Doppelquantenzuständen von Deuteronen. Ähnlich der REDOR-Sequenz können auch mit der BaBa-Sequenz Aufbaukurven beziehungsweise Seitenbandenmuster gemessen werden, um die Kopplungstärke zu bestimmen. Die zu Grunde liegende Pulssequenz für diese Experimente ist in Abbildung 3.4a dargestellt. Die gesamte Wiedereinkopplungszeit wird in zwei symmetrische Blöcke geteilt, in denen jede halbe Rotorperiode von je zwei π/2-Pulsen begrenzt wird. Das allgemeine Phasenschema eines Blocks lautet $[x, \tau_R/2, -x, y, \tau_R/2, -y]_N$. Wenn die Wiedereinkopplungsdauer eines Blocks länger als eine Rotorperiode ist (N=2, 4, 6, …), so können die Vorzeichen der Pulse in übergeordneten Zyklen weiter variiert werden, um Offset-

Effekte und Pulsimperfektionen zu kompensieren. Der Phasenzyklus für ein Segment mit N=4 ist in Abbildung 3.4b dargestellt.

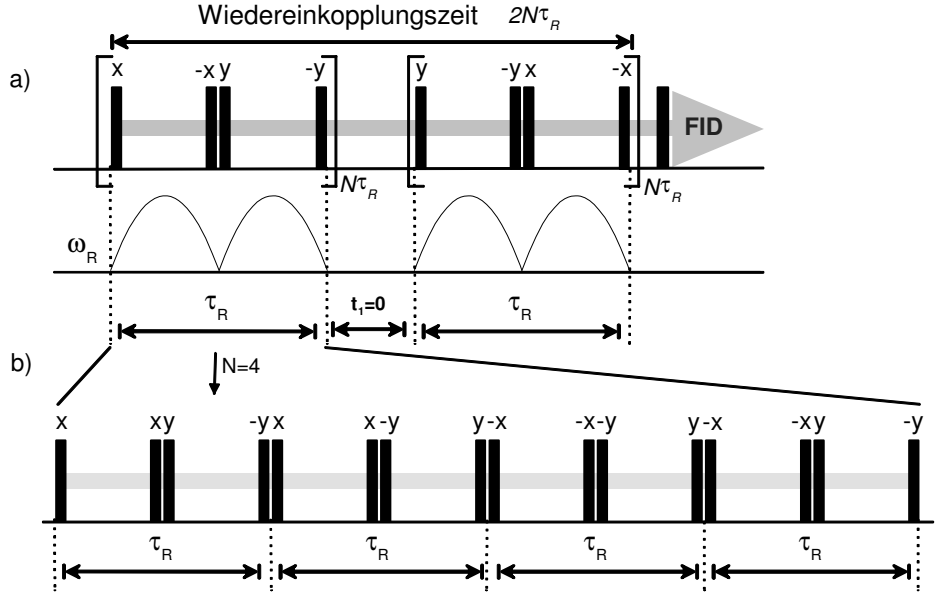


Abbildung 3.4: Die BaBa-Sequenz. a) Allgemeine Sequenz zur Messung von Aufbaukurven. Die Zeit t_1 zwischen den beiden Recoupling-Blöcken ist Null. b) Phasenabfolge eines Blocks mit 4 Rotorperioden.

Die mathematische Behandlung kann mit dem gleichen Vorgehen erfolgen, wie bei der REDOR-Sequenz. Der erste p/2-Puls regt eine transversale Magnetisierung an, welche sich unter den Wiedereinkopplungspulsen entwickelt. Man denke sich die REDOR-π-Pulse einfach gegen zusammengesetzte $\pi/2_x$-$\pi/2_y$-Pulse ausgetauscht. Für die Entwicklung der transversalen Magnetisierung unter der homonuklearen Dipol-Dipol-Kopplung gilt:

$$\hat{I}_x^{(i)} + \hat{I}_x^{(j)} \xrightarrow{\hat{\bar{H}}_{D,\mathrm{homo}},N\tau_R} \left(\hat{I}_x^{(i)} + \hat{I}_x^{(j)}\right)\cos N\bar{\Phi}_0^{ij} + \left(2\hat{I}_y^{(i)}\hat{I}_z^{(j)} + 2\hat{I}_y^{(j)}\hat{I}_z^{(i)}\right)\sin N\bar{\Phi}_0^{ij} \qquad (3.26)$$

mit

$$\bar{\Phi}_0^{ij} = \Phi^{ij}\left(\tau_R\right) - \Phi^{ij}\left(0\right) = \frac{D_{ij}}{\omega_R} 3\sqrt{2}\sin 2\beta \sin\gamma. \qquad (3.27)$$

Im Unterschied zum REDOR hat der letzte π/2-Puls des BaBa-Blocks hat eine andere Phase als der Anregungspuls, wodurch der Doppelquantenzustand selektiert wird. Das detektierte Signal (beispielsweise bei der Messung von Aufbaukurven) lässt sich durch Multiplikation der Modulationen beider in der Pulssequenz aufeinander folgenden Blöcke beschreiben:

$$S_{DQ}^{ij} \propto \left\langle \sin N\bar{\Phi}_0^{ij} \cdot \sin N\bar{\Phi}_0^{ij} \right\rangle_{\beta,\gamma}. \tag{3.28}$$

Das experimentelle Aufnehmen von Aufbaukurven ist im Falle der BaBa-Sequenz erschwert, da für jeden Datenpunkt ein eigener Phasenzyklus existiert und die jeweilige Kompensierung von Offset-Effekten und Pulsimperfektionen unterschiedlich stark ist. In Kapitel 5.1 wird besprochen, wie mit Hilfe von Rotationsseitenbanden eine Bestimmung der homonuklearen Dipol-Dipol-Kopplung geschehen kann.

4 ^{1}H-^{15}N-Abstandsbestimmungen

Einen Abstand zwischen zwei Kernen mit Methoden der Festkörper-NMR zu messen bedeutet in der Regel, dass die Dipol-Dipol-Kopplung zwischen diesen Kernen bestimmt wird. Pionierarbeit auf dem Gebiet der Abstandsmessungen erbrachte in den 1980er Jahren die Gruppe um R. G. Griffin [Roberts 87]. Es konnten die N–H-Kopplungen von verschiedenen Aminosäuren im Festkörper gemessen werden, was für die Anwendung in biologischen Systemen von Bedeutung war. Es wurden dazu meist so genannte „Separated Local Field"-Techniken verwendet, die jedoch nur für langsames MAS geeignet sind. Mit der Entwicklung von besseren Wiedereinkopplungssequenzen konnten auch für schnelles MAS Abstandsmessungen durchgeführt werden, wobei durch die chemische Verschiebungsauflösung in 2D-Experimenten mehrere Kopplungen gleichzeitig gemessen werden konnten. Für N–H-Abstandsmessungen werden häufig REDOR-Aufbaukurven genutzt [Jaroniec 01]. Es wurde auch eine neue „Separated Local Field"-Methode eingeführt, die auf der $R18_2^5$-Sequenz aufbaut [Zhao 01].

Bei den bisherigen Arbeiten über wasserstoffverbrückte Systeme wurden die Abstandsmessungen jedoch in verhältnismäßig einfachen Systemen durchgeführt, und die Genauigkeit der Messungen war ebenfalls nicht sehr hoch. Weiterhin fehlte häufig eine Referenzmethode, mit der die Ergebnisse validiert werden konnten.

In dieser Diplomarbeit wird ein Ansatz verfolgt, der auf der Generierung von Seitenbandenmustern beruht. Die dazu verwendeten Experimente sind das HDOR und das REREDOR [Saalwächter 02]. Letzteres wurde ursprünglich zur kohlenstoffdetektierten Messung der dipolaren Kopplungen in CH_2-Gruppen entwickelt und wird in dieser Arbeit erstmalig auf N–H-Abstände angewendet. Dazu wurde auch eine invers-detektierte REREDOR-Variante entwickelt, mit der es möglich ist, die Detektion kann sowohl vom Stickstoff als auch von den Protonen aus vorzunehmen.

In diesem Kapitel werden zu Beginn die Substanzen vorgestellt, mit denen gearbeitet und an denen die Methoden entwickelt wurden. Im Anschluss daran werden die NMR-Methoden diskutiert und schließlich die Ergebnisse der Abstandsmessungen vorgestellt. Dabei werden insbesondere quantenchemische Rechnungen mit einbezogen und der Einfluss von Schwingungsmittelungen auf die gemessenen Abstände diskutiert.

Die Ergebnisse an den Ureido-Pyrimidinonen sind in Verbindung mit den quantenchemischen Rechnungen in Kooperation mit T. Metzroth und Prof. J. Gauss von der Universität Mainz zur Veröffentlichung eingereicht [Schulz-Dobrick 04].

4.1 Verwendete Substanzen

Um das Potential der entwickelten Methoden zu ergründen, wurde nach Modellsystemen gesucht, welche mehrere Kriterien erfüllen sollten. Als erstes sollte es sich um wasserstoffverbrückte Systeme handeln, da diese für biologische und materialwissenschaftliche Anwendungen große Relevanz haben. Weiterhin sollte ihre prinzipielle Struktur bekannt sein und auch die N-H-Abstände sollten durch andere Methoden (Quantenchemische Rechnungen, Neutronenbeugung) zugänglich sein, um Vergleichswerte für die mit NMR gemessenen Abstände zu haben. Isotopenmarkierung mit ^{15}N muss in den Systemen möglich sein, ideal ist das Strukturelement ^{15}N-^{1}H…^{15}N, da in dieser Wasserstoffbrücke alle Kerne NMR-aktiv sind. In dieser Arbeit wurden drei verschiedene Systeme vermessen: Cytosin-Monohydrat und zwei Ureido-Pyrimidinon-Derivate.

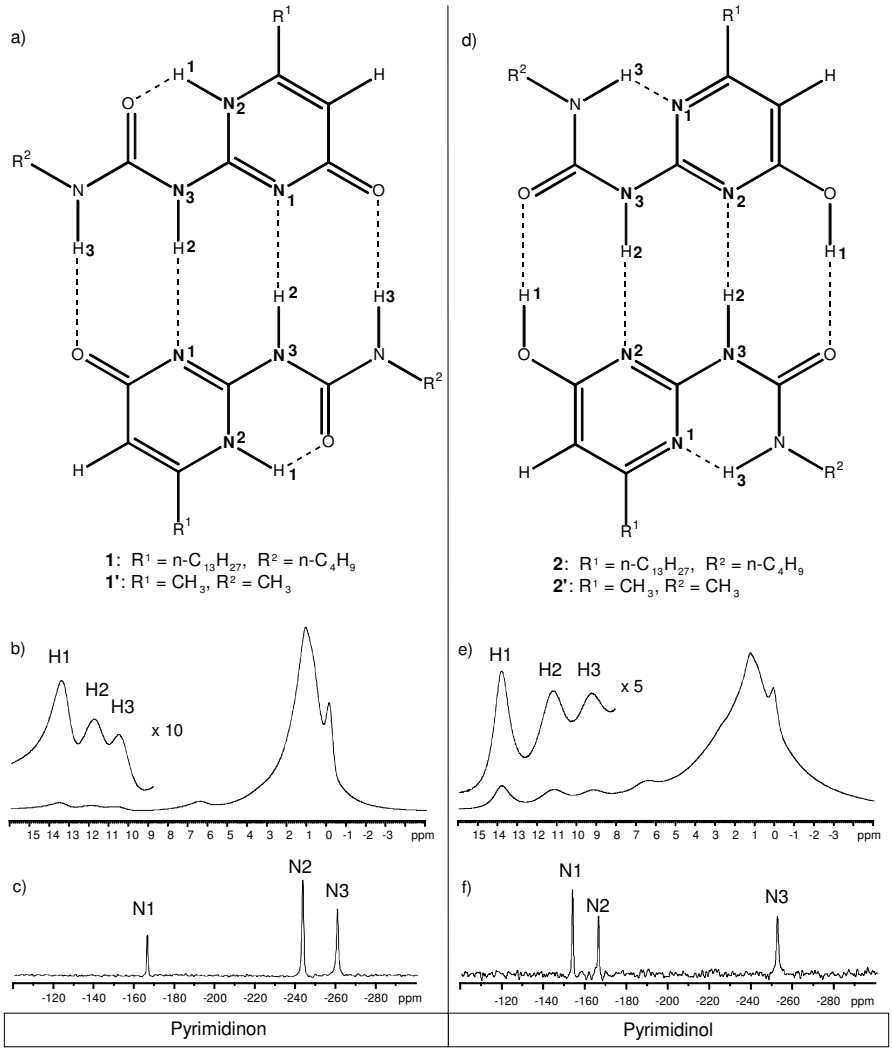


Abbildung 4.1: Strukturformeln (a, d) mit Nummerierung der Protonen und ^{15}N-Markierungen, ^{1}H-Spektren (b, e) und ^{15}N-Spektren (c, f) der Pyrimidinon-Form (a, b, c) und der Pyrimidinol-Form (d, e, f).

Die beiden Ureido-Pyrimidinon-Derivate sind zwei Tautomere von *N*-butylaminocarbonyl-6-tridecyl-isocytosin und werden im Folgenden mit Pyrimidinon-Form (**1**) und Pyrimidinol-Form (**2**) abgekürzt (siehe Abbildung 4.1a). Das besondere bei diesen Strukturen ist die Dimerisierung über eine vierfache Wasserstoffbrücke, die bereits erfolgreich als Verbindungseinheit in supramolekularen Polymeren benutzt wurde [Sijbesma 97, Brunsfeld 01, Beijer 98]. Diese Modellsysteme besitzen neben den vier intermolekularen Wasserstoffbrücken noch zwei intramolekulare Wasserstoffbrücken. Die Synthese [Söntjens 00] ging von $^{15}N_3$-markiertem Guanidin aus, so dass alle Stickstoffe der Isocytosin-Einheit NMR-aktiv sind und umfangreiche Abstandsmessungen in diesen komplexen Strukturen möglich sind. Die beiden tautomeren Formen werden durch Umkristallisieren aus Chloroform (Pyrimidinon) beziehungsweise DMF (Pyrimidinol) erhalten. In Abbildung 4.1a und b sind die ^{1}H- und ^{15}N-Spektren gezeigt. Die chemischen Verschiebungen der einzelnen Kerne sind gut aufgelöst. An diesen Modellsystemen wurden quantenchemische Rechnungen durchgeführt (siehe Kapitel 4.3.1), um sowohl die gemessenen und berechneten N-H-Abstände zu vergleichen, als auch die vollständige Struktur zu bestimmen.

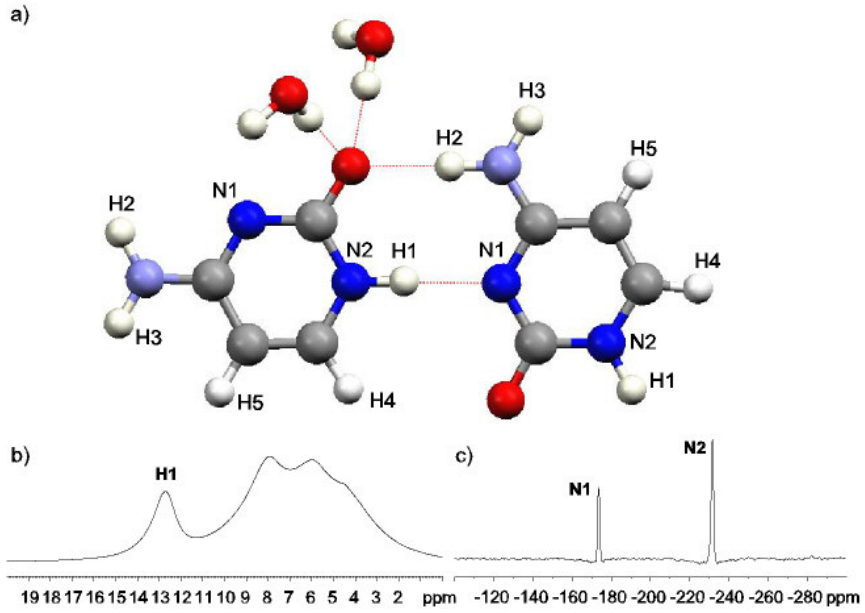


Abbildung 4.2: a) Ausschnitt aus der Neutronenstruktur von Cytosin-Monohydrat mit Nummerierung der Atome. Die ^{15}N sind dunkelblau, die ^{14}N hellblau gekennzeichnet. b) ^{1}H-Spektrum und c) ^{15}N-Spektrum.

Die zweite Struktur ist das Cytosin-Monohydrat (**3**), welches aus $^{15}N_2$-markiertem Harnstoff nach [Bendich 49] synthetisiert wurde. Das Monohydrat wird durch einfache Umkristallisation aus Wasser erhalten und hat gegenüber dem reinen Cytosin den Vorteil einer schnelleren Spin-Gitter(T_1)-Relaxationszeit. Mit Sättigungserholungsexperimenten wurde für Cytosin-Monohydrat eine Protonen-T_1-Zeit von 30 Sekunden und für Cytosin von etwa 160 Sekunden bestimmt, der Grund liegt in der größeren Mobilität durch die Drehbarkeit der Wassermoleküle. Damit würde eine Abstandsmessungen am Cytosin mehrere Tage dauern, was in der Ent-

wicklungsphase der Experimente nicht praktikabel wäre. Weiterhin ist eine Neutronenbeugungsstruktur von Cytosin-Monohydrat verfügbar [Weber 80], wodurch Vergleiche zwischen NMR- und Neutronendaten möglich sind.

Abbildung 4.2 zeigt einen Ausschnitt aus der Neutronenstruktur und die ^{1}H- und ^{15}N-Spektren vom isotopenmarkierten Cytosin-Monohydrat. Die ^{15}N sind beide Bestandteile des aromatischen Rings und bilden eine intermolekulare ^{15}N-H…^{15}N-Wasserstoffbrücke, deren Kerne über ihre chemische Verschiebung eindeutig identifiziert werden können.

4.2 REREDOR und HDOR

In diesem Abschnitt werden die Experimente vorgestellt, die genutzt worden sind, um N-H-Abstände in supramolekularen, polykristallinen Systemen, mit bislang unerreichter Genauigkeit zu messen. Nach der methodischen Einführung in die Pulssequenzen und die Auswertung werden verschiedene Einflüsse von Störungen diskutiert, welche bei realen Proben und Experimenten auftreten. Durch die Kenntnis dieser Zusammenhänge können systematische Fehler identifiziert und die Genauigkeit der Messungen gesteigert werden. Die Methoden und Vorgehensweisen, die Gegenstand dieses Kapitels sind, können auch für andere Experimente verwendet werden, bei denen mittels Seitenbandenmuster Dipol-Dipol-Kopplungen, Quadrupolkopplungen oder chemische Verschiebungsanisotropien genau gemessen werden sollen, um Informationen über Strukturen, Orientierungen oder dynamische Prozesse zu erhalten.

4.2.1 Methodische Grundlagen

Für die Abstandsmessungen wurden zwei verschiedene Experimente verwendet: REREDOR (Rotor-Encoded REDOR) und HDOR (Heteronuclear Dipolar-Order Rotor-Encoding). Die Unterscheidung rührt von den verschiedenen Kohärenzen her, die für die Detektion selektiert beziehungsweise nicht selektiert werden. Die Pulssequenzen dieser Experimente sind in Abbildung 4.3 dargestellt. Für jede Pulssequenz gibt es jeweils zwei verschiedene Möglichkeiten der Umsetzung, da sowohl die *S*-Spins (^{1}H) als auch die *I*-Spins (^{15}N) die transversale Magnetisierung tragen können. Es wird für diese beiden Varianten die Nomenklatur REREDOR-HH(N) und REREDOR-NN(H) beziehungsweise HDOR-HH(N) und HDOR-NN(H) eingeführt. Der erste Buchstabe bezeichnet den Kern, der während der ersten Wiedereinkopplungsperiode transversal ist und der zweite Buchstabe den Kern, der während der zweiten Wiedereinkopplungsperiode transversal ist. Für Abstandsmessungen ist nur das symmetrische Schema geeignet (siehe unten) und mit dem Buchstaben in Klammern wird der passiven Kern bezeichnet, dessen Dipol-Dipol-Kopplung zum aktiven Kern durch die REDOR-π-Pulse wiedereingekoppelt wird. Die Anregung der transversalen Magnetisierung erfolgt im Falle des HH(N)-Schemas durch einen einfachen $\pi/2$-Puls. Bei der Detektion konn-

te auf eine Entkopplung [DD, Dipolar Decoupling] des Stickstoffs verzichtet werden. Die Anregung von transversaler ^{15}N-Magnetisierung beim NN(H)-Schema erfolgt durch eine Standard-MAS-adaptierte Kreuzpolarisation [Metz 94]. Dabei werden auf beiden Kanälen Lock-Pulse von 4 ms Dauer eingestrahlt, deren B_1-Felder die Hartmann-Hahn-Bedingung $\gamma_S B_S = \gamma_I B_I \pm n \cdot \omega_R$ (in diesem Fall n=1) erfüllen, was durch eine lineare Rampe auf dem I-Kanal unterstützt wird. Die maximale Polarisationsverstärkung ist durch das Verhältnis γ_S / γ_I gegeben, welches im Falle ^{1}H/^{15}N etwa 10 entspricht. Bei der Stickstoffdetektion wurde ein TPPM-Entkopplungsschema [Bennett 95] auf dem Protonen-Kanal angewendet.

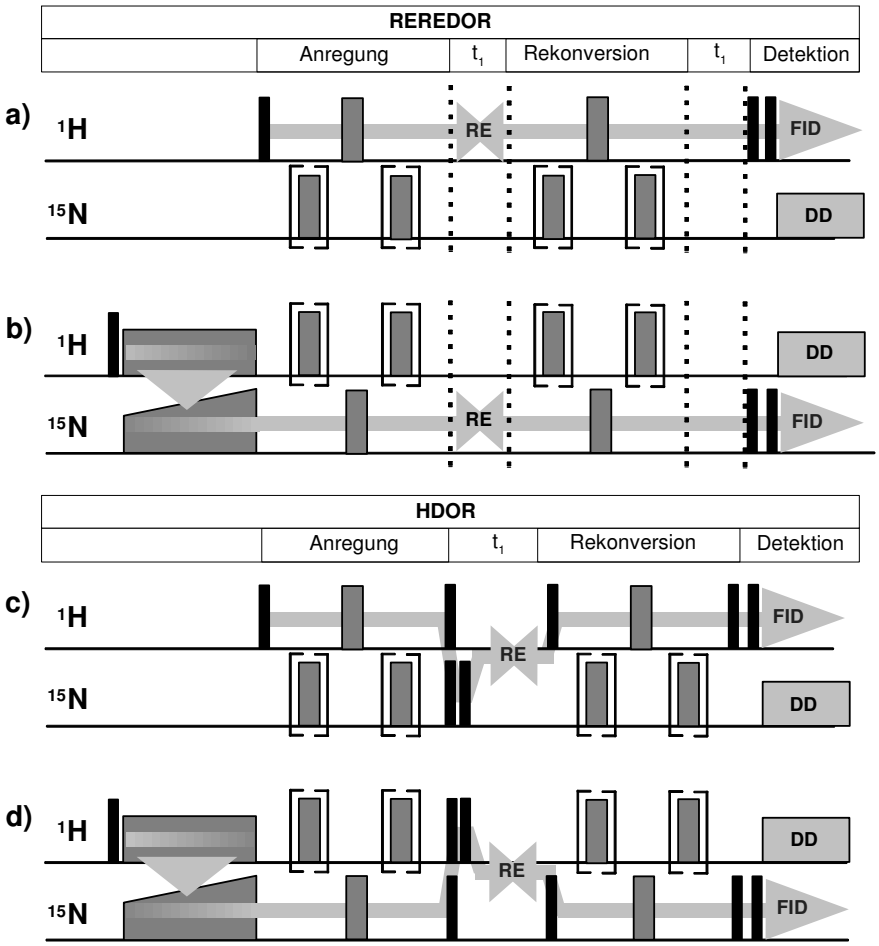


Abbildung 4.3: Pulssequenzen für die N-H-Abstandsmessungen. a) REREDOR-HH(N), b) REREDOR-NN(H), c) HDOR-HH(N) und d) HDOR-NN(H). Die grauen Pfeile deuten den Pfad der transversalen Magnetisierung an.

In beiden Detektionsschemata wird die transversale Magnetisierung am Ende der Pulssequenz nicht direkt detektiert, sondern erst nach Durchlaufen eines z-Filters aus zwei π/2-Pulsen, deren Phasen zyklisch gegeneinander vertauscht werden. Bei der folgenden mathematischen

Beschreibung der Experimente kommt es nicht auf das Detektionsschema an, mit *S*-Spins und *I*-Spins können jeweils beliebige Spin-1/2-Kerne identifiziert werden.
In beiden Experimenten wird ein transversaler Magnetisierungszustand einer Sorte Spins erzeugt, welcher dann in zwei Wiedereinkopplungsblöcken der heteronuklearen Kopplung D_{IS} ausgesetzt ist. Die Wiedereinkopplungsblöcke basieren auf der REDOR-Pulssequenz und werden zur Unterscheidung als Anregung und Rekonversion bezeichnet. Zwischen den Blöcken ist ein Zeitintervall t_1 eingefügt, wodurch die Rotorphase zu Beginn des zweiten Blocks um einen Phasenwinkel $\omega_R t_1$ verschoben wird. Diese Verschiebung wird als „Rotor-Encoding“ bezeichnet und ist die Ursache für die Amplitudenmodulation der am Ende detektierten transversalen Magnetisierung und die Generierung von Rotationsseitenbanden nach anschließender Fourier-Transformation.
Die mathematische Behandlung geschieht im Rahmen der Average Hamiltonian Theorie (siehe Kapitel 3). Im Folgenden sind noch einmal die zentralen Gleichungen zusammengefasst. Die Entwicklung der transversalen Magnetisierung unter der heteronuklearen dipolaren Wechselwirkung $\hat{\bar{H}}_{D,IS}(t)$ eines Spinpaares *IS* lautet:

$$\hat{I}_x \xrightarrow{\hat{\bar{H}}_{D,IS}(t),t'\to t''} \hat{I}_x \cos\Phi(t';t'') + 2\hat{I}_y\hat{S}_z \sin\Phi(t';t''). \tag{4.1}$$

Formal entstehen die Modulationen durch die akquirierte Phase $\Phi(t';t'')$

$$\Phi(t';t'') = \int_{t'}^{t''} D_{ij}\left[\tfrac{1}{2}\sin^2\beta\cos(2\omega_R t + 2\gamma) - \tfrac{1}{\sqrt{2}}\sin 2\beta\cos(\omega_R t + \gamma)\right]dt \tag{4.2}$$

Die akquirierte Phase über eine Rotorperiode freier Entwicklung ist $\Phi(t_1;t_1+\tau_R)=0$, das MAS mittelt die Wechselwirkung vollständig aus. Wird REDOR-Recoupling angewendet, so lautet die akquirierte Phase über eine Rotorperiode (aus Gl. (3.22) und (3.24)):

$$\bar{\Phi}_{t_1} = \Phi(0;t_1+\tau_R) - \Phi(0;t_1) = \frac{D_{ij}}{\omega_R} 2\sqrt{2}\sin 2\beta \sin(\gamma + \omega_R t_1) \tag{4.3}$$

Mit diesen beiden Gleichungen für die freie Entwicklung des Spinsystems und das REDOR-Recoupling können die Pulssequenzen beschrieben werden.

Die REREDOR-Sequenz besteht aus einem REDOR-Anregungsblock von N_{exc} Rotorperioden und einem Rekonversionsblock von N_{rec} Rotorperioden Länge. Zwischen den beiden Blöcken und nach dem Rekonversionsblock ist ein Zeitintervall t_1 eingefügt. Das zweite t_1-Intervall ist nötig, damit die isotrope chemische Verschiebung durch den zentralen π-Puls im Rekonversionsblock auf den detektierten Spins vollständig refokussiert werden kann. Beim REREDOR wird eine transversale Magnetisierung $\hat{I}_x$ erzeugt, welche über die Pulssequenz hinweg dipolaren Wechselwirkungen ausgesetzt wird und deren Amplitude $\hat{I}_x \cos\Phi_{ges}$ am Ende detektiert wird. Das Signal ist damit proportional zum Cosinus der Summe aller akquirierten Phasen. Für den einfachen Fall eines Spinpaares *IS* gilt:

$$S(t_1) \propto \left\langle \cos\Phi_{ges}(t_1) \right\rangle_{\beta,\gamma} = \left\langle \cos\left(N_{exc}\bar{\Phi}_0 - \Phi(0;t_1) - N_{rec}\bar{\Phi}_{t_1} + \Phi(t_1;2t_1) \right) \right\rangle_{\beta,\gamma} \tag{4.4}$$

Im Falle von mehreren heteronuklearen Kopplungen müssen die Formeln erweitert werden. Für den Fall eines IS_n-Spinsystems, bei dem I transversal ist, ist der Ausdruck gegeben durch das Produkt aller einzelnen Kopplungen:

$$S(t_1) \propto \left\langle \prod_i^n \cos\left(N_{exc}\bar{\Phi}_0^{(i)} - \Phi^{(i)}(0;t_1) - N_{rec}\bar{\Phi}_{t_1}^{(i)} + \Phi^{(i)}(t_1;2t_1) \right) \right\rangle_{\beta,\gamma} \tag{4.5}$$

Die HDOR-Sequenz unterscheidet sich von der REREDOR-Sequenz durch die vier π/2-Pulse zwischen den Wiedereinkopplungsblöcken, die den $2\hat{I}_y\hat{S}_z$-Zustand selektieren. Dieser wird durch einen x-Puls auf *I* und zwei ±x-Pulsen auf *S* in einen $\pm 2\hat{I}_z\hat{S}_z$-Zustand gebracht. Dieser longitudinale Zustand („dipolar order“) ist sehr stabil und entwickelt sich nicht während des t_1-Intervalls, wodurch auf den Einschub eines zweiten t_1-Intervalls, wie beim REREDOR, verzichtet werden kann. Durch einen weiteren x-Puls auf *I* nach der t_1-Zeit wird der $\pm 2\hat{I}_z\hat{S}_z$-Zustand in einen $\mp 2\hat{I}_y\hat{S}_z$-Zustand transformiert, der sich durch den Rekonversionsblock wieder in einen Einquanten-$\hat{I}_x$-Zustand entwickelt, der detektiert wird. In einem Diagramm kann die Wirkung der HDOR-Sequenz verdeutlicht werden:

$$\begin{aligned} \hat{I}_x &\xrightarrow{\Phi_{exc}} 2\hat{I}_y\hat{S}_z \sin\Phi_{exc} \xrightarrow{\frac{\pi}{2}\hat{I}_x, \frac{\pi}{2}\hat{S}_x, \mp\frac{\pi}{2}\hat{S}_x} \pm 2\hat{I}_z\hat{S}_z \sin\Phi_{exc} \\ &\xrightarrow{t_1, \frac{\pi}{2}\hat{I}_x} \mp 2\hat{I}_y\hat{S}_z \sin\Phi_{exc} \xrightarrow{\Phi_{rec}} \pm\hat{I}_x \sin\Phi_{exc} \sin\Phi_{rec} \end{aligned} \tag{4.6}$$

Die Phase des Empfängers wird entsprechend dem Vorzeichen des detektierten $\hat{I}_x$-Zustandes angepasst. Alle anderen Kohärenzen heben sich durch den Phasenzyklus auf und sind im Diagramm nicht berücksichtigt. Das detektierte Signal wird durch die akquirierten Phasen der

beiden Wiedereinkopplungsblöcke beschrieben, die sich um die Rotorphase $\omega_R t_1$ unterscheiden. Für ein 2-Spin-System *IS* gilt:

$$S(t_1) \propto \left\langle \sin\left(N_{exc}\bar{\Phi}_0\right)\sin\left(N_{rec}\bar{\Phi}_{t_1}\right)\right\rangle_{\beta,\gamma}. \tag{4.7}$$

Für ein IS_n-System mit $II(S)$-Recoupling muss die Formel erweitert werden:

$$S(t_1) \propto \left\langle \sum_i^n \sin\left(N_{exc}\bar{\Phi}_0^{(i)}\right)\sin\left(N_{rec}\bar{\Phi}_{t_1}^{(i)}\right)\prod_{j\neq i}\cos\left(N_{exc}\bar{\Phi}_0^{(j)}\right)\cos\left(N_{rec}\bar{\Phi}_{t_1}^{(j)}\right)\right\rangle_{\beta,\gamma}. \tag{4.8}$$

Die Summe geht über alle Wechselwirkungen zu den Spins $S^{(i)}$. Das innere Produkt beschreibt Interferenzterme zwischen den $S^{(i)}$.

Technisch werden REREDOR und HDOR als zweidimensionale Experimente durchgeführt. In der direkten t_2-Dimension wird der FID aufgenommen und in der indirekten t_1-Dimension die oben beschriebene Modulation, in dem das t_1-Intervall schrittweise von 0 bis τ_R erhöht wird. Nach Fourier-Transformation in der direkten Dimension wird ein Spektrum erhalten, welches die chemische Verschiebungsauflösung in der direkten mit der jeweiligen Modulation in der indirekten Dimension kombiniert. Zur Generierung des Seitenbandenmusters wird die Modulation mehrfach hintereinander gehängt und anschließend Fourier-transformiert.

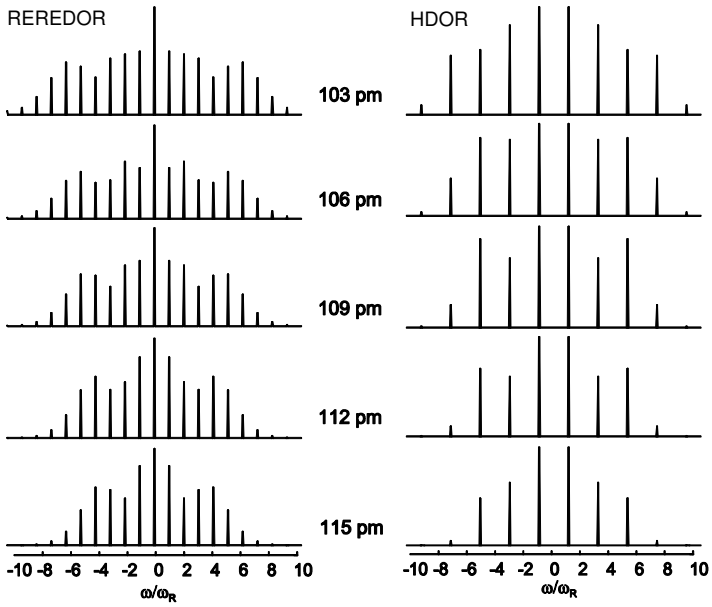


Abbildung 4.4: Berechnete REREDOR- (links) und HDOR- (rechts) Seitenbandenmuster eines NH-Zweispinsystems mit einem Abstand von 103 pm bis 115 pm. N_{exc} und N_{rec} sind jeweils 8 bei einer Drehfrequenz von 30 kHz.

In Abbildung 4.4 sind berechnete Seitenbandenmuster beider Experimente für ein NH-Zweispinsystem mit verschiedenen Abständen gezeigt. Beim REREDOR wird kein spezieller

Zustand selektiert und das Seitenbandenmuster enthält Seitenbanden gerader und ungerader Ordnungen. Die Selektion des Dipolar-Order-Zustands beim HDOR führt nur zu Seitenbanden ungerader Ordnungen. Ein Vorteil bei dieser Selektion ist, dass dieser Zustand während des t_1-Intervalls von störenden Wechselwirkungen (zum Beispiel chemische Verschiebungsanisotropie) nicht beeinflusst wird, was zu einer größeren experimentellen Freiheit beiträgt. Die t_1-Zeit kann dadurch auch viel länger sein als eine Rotorperiode, wodurch beispielsweise Bewegungs- oder Transportprozesse studiert werden könnten. Die REREDOR-Sequenz hat den Vorteil der höheren Signalstärke gegenüber dem HDOR, bei dem etwa die Hälfte des Signals weggefiltert wird. Der Nachteil ist jedoch, dass für die t_1-Intervalle nur die isotrope, nicht aber die anisotrope chemische Verschiebung refokussiert wird.

Während die Wiedereinkopplungsrichtung NN(H) oder HH(N) für die Herleitung obiger Formeln nicht entscheidend ist, so ist sie für die praktische Umsetzung und auch für den Informationsgehalt der Experimente wichtig. Offensichtlich ist, dass die chemische Verschiebung und ihre Auflösung unterschiedlich sind und damit auch die Kerne, denen ein Seitenbandenmuster zugeordnet wird. Zusätzlich ist die Wiedereinkopplungsrichtung entscheidend, wenn mehr als nur ein NH-Spinpaar betrachtet wird. Beispielsweise würde für ein NHN'-Dreispinsystem ein NN(H)-Schema zwei separate, unabhängige Paarwechselwirkungen, N-H und N'-H, liefern, während ein HH(N)-Schema beide Kopplungen einschließlich deren Winkel gleichzeitig detektiert. Die Wahl des Wiedereinkopplungsschemas beeinflusst damit nicht nur die Selektivität des detektierten Spins, sondern auch die Selektivität der detektierten Geometrie. Für Abstandsmessungen ist es daher sinnvoll, symmetrische Wiedereinkopplungsblöcke zu verwenden und den aktiven Kern bei Anregung und Detektion nicht zu wechseln. Experimente mit Magnetisierungstransfer (REPT, „Recoupled Polarization Transfer") haben im Allgemeinen bei Anregung und Rekonversion unterschiedliche Spingeometrien, was quantitative Messungen erschwert. Diese Techniken eignen sich besser für qualitative Spinkorrelationsexperimente.

Das Ziel der REREDOR- und HDOR-Experimente ist die Messung von Abständen zwischen den Kernen. Die Auswertung erfolgt dabei durch Simulation der experimentellen Seitenbandenmuster mit dem Ziel, die zu Grunde liegenden Dipol-Dipol-Kopplungen zu erhalten. Daraus werden effektive Abstände berechnet gemäß Gl. (2.21):

$$r_{eff}^{ij} = \sqrt[3]{\left|\frac{\mu_0 \hbar \gamma_i \gamma_j}{4\pi D_{ij}}\right|} \tag{4.9}$$

Alle Abstände, die über die (schwingungsgemittelte) Dipol-Dipol-Kopplung gemessen werden, sind effektive Abstände. Wie diese effektiven Abstände zu verstehen und mit denen aus quantenchemischen Rechnungen oder der Neutronenbeugung in Verbindung zu bringen sind, wird in den Kapiteln 4.4.2 und 4.3.4 diskutiert.

Für Systeme mit bis zu drei Spins wurden die Seitenbandenmuster direkt mit den Gl. (4.4)-(4.8) berechnet. Für größere Systeme wurden numerische Simulationen mit Hilfe des SIMPSON-Programmpakets [Bak 00] durchgeführt. In den folgenden Kapiteln werden Effekte von endlichen Pulslängen, Störkopplungen und Fluktuationen in der Rotationsfrequenz und deren Berücksichtigung bei der Auswertung diskutiert. Die Zentralbande (Seitenbande 0.Ordnung) bei den REREDOR-Experimenten wird nicht mit in den Fit miteinbezogen, da sie bei den meisten Messungen durch Relaxationseffekte stark überhöht ist und durch einfaches Addieren einer Konstanten zum Zeitsignal korrigiert werden kann.
Die Auswertung wurde mit dem Matlab-Programm SIDEBANDS durchgeführt, welches im Rahmen dieser Diplomarbeit programmiert wurde. Es bietet die Möglichkeit, über eine grafische Benutzeroberfläche die Rohdaten routinemäßig zu prozessieren und die entsprechenden Simulationen durchzuführen. Es dient weiterhin der Entwicklung von neuen Methoden, da durch seinen modularen Aufbau leicht neue Seitenbanden-Experimente integriert werden können. Einen Überblick über das Programm mit einem „Screenshot“ und auch den Funktionen, die in dieser Diplomarbeit nicht genutzt wurden, findet sich im Anhang.

4.2.2 Einfluss von endlichen Pulslängen

Die mathematische Behandlung der Wiedereinkopplungssequenzen ging von unendlich kurzen δ-Pulsen aus. Dabei dreht sich der Rotor im Ortsraum während der Rotation im Spinraum effektiv nicht. In der Praxis können selbstverständlich keine unendlich kurzen Pulse erzeugt werden, da die Leistung der Pulsgeneratoren und Verstärker begrenzt ist. Für die REDOR-π-Pulse bei den N–H-Abstandsmessungen wurden Pulslängen von 5 µs eingesetzt, was einer Stärke von $\omega_1/2\pi$=100000 Hz entspricht. Die Pulse haben einen Abstand von einer halben Rotorperiode, die bei der verwendeten MAS-Frequenz von 29762 Hz genau 16.8 µs lang ist. Folglich beträgt der Anteil einer Rotorperiode ϕ, während dem gepulst wird, etwa 30 %. Es werden nun zwei Effekte diskutiert. Der erste ist der Einfluss der endlichen Pulslängen auf die heteronukleare Dipol-Dipol-Kopplung und der zweite ist der Einfluss von homonuklearen Störkopplungen auf die Seitenbandenmuster.
Eine mathematische Behandlung von endlichen Pulslängen unter REDOR ist von Jaroniec et al [Jaroniec 00] beschrieben worden. Der Spinteil des Hamilton-Operators der heteronuklearen Dipol-Dipol-Wechselwirkung $2\hat{I}_z\hat{S}_z$ wird durch einen zeitabhängigen Term

$$\hat{H}(t) \sim f(t)2\hat{I}_z\hat{S}_z + g(t)2\hat{I}_z\hat{S}_x + h(t)2\hat{I}_z\hat{S}_y \tag{4.10}$$

ersetzt, wobei die π-Pulse auf den *S*-Spins angewendet werden. *f*, *g* und *h* sind zeitabhängige Funktionen, von denen *g* und h nur während der Pulse einen Wert ungleich Null annehmen

und vom Phasenzyklus abhängen. Die Funktion *f* beschreibt die Inversion des Spinanteils, sie wechselt zwischen ±1 während aufeinander folgenden, halben Rotorperioden. Dieser Wechsel erfolgt während der Zeit, in der Pulse eingestrahlt werden.
Wird der mittlere Hamilton-Operator explizit berechnet, so kann ein Faktor κ definiert werden, mit welchem die effektiv wiedereingekoppelte Dipol-Dipol-Kopplung skaliert ist. Dieser Faktor ist abhängig Anteil der Pulse an der Rotorperiode ϕ und auch vom Phasenzyklus. Für den in dieser Arbeit verwendeten xy-4-Phasenzyklus berechnet sich κ zu:

$$\kappa = \frac{\cos\left((\pi/2)\phi\right)}{1-\phi^2} \tag{4.11}$$

Bei dem erzielten Verhältnis von ϕ=0.3 ist κ=0.98. Das bedeutet, dass die im Experiment akquirierte Phase durch endliche Pulslängen nur 98% von der theoretisch erwarteten akquirierten Phase beträgt. Für ein Verhältnis von ϕ=0.6 beträgt κ=0.92.
Obige Formel wurde für einen einfachen REDOR-Block und ein Zweispinsystem hergeleitet. In dieser Arbeit wurde sie auch auf die REREDOR- und HDOR-Experimente übertragen, in dem der Faktor κ in die akquirierte Phase über eine Rotorperiode REDOR-Recoupling (Gl. (4.3)) eingefügt wurde:

$$\bar{\Phi}_{t_1} = \Phi\left(t_1+\tau_R\right) - \Phi\left(t_1\right) = \frac{\kappa \cdot D_{ij}}{\omega_R} 2\sqrt{2}\sin 2\beta \sin\left(\gamma + \omega_R t_1\right) \tag{4.12}$$

Die Gültigkeit dieses Vorgehens wurde anhand von numerischen Simulationen überprüft, wobei für eine Serie von verschiedenen Pulslängen, Wiedereinkopplungsdauern, Rotationsfrequenzen und Kopplungsstärken keine signifikanten Unterschiede zwischen numerisch und analytisch berechneten Seitenbandenmuster gefunden wurden. Auch die Erweiterung auf Mehrspinsysteme wurde durch numerische Rechnungen überprüft. Dieser Befund ist für die praktische Auswertung sehr nützlich, da eine analytische Berechnung eines Seitenbandenmusters wenige Sekunden dauert, während ein numerisch berechnetes Muster Minuten oder Stunden in Anspruch nehmen kann.
Würden endliche Pulslängen vernachlässigt werden, so würde eine 2% zu niedrige Kopplung gemessen werden, was umgerechnet auf die Abweichungen in den Bindungslängen 0.5 pm bei den kurzen und etwa 1.5 pm bei den langen Abständen in Wasserstoffbrücken bedeuten würde. Da die Fehlergrenzen der Experimente (siehe Kapitel 4.3) bei ±1 pm für die kurzen und ±5 pm für die langen Abstände liegen, ist es durchaus wichtig, für präzise Messungen die Effekte endlicher Pulslängen zu berücksichtigen, insbesondere wenn durch eine fortschreitende Technik mit immer höheren MAS-Frequenzen gearbeitet werden kann.

Ein weiterer Effekt, der mit endlichen Pulslängen einhergeht, ist der Einfluss von homonuklearen Kopplungen auf die Seitenbandenmuster. Prinzipiell sollte sich die homonukleare Dipol-Dipol-Kopplung eines Spinpaares unter MAS und auch unter der REDOR-Sequenz vollständig ausmitteln. Dieses funktioniert jedoch nicht vollständig für endliche Pulse, welche mit dem MAS interferieren können. Weiterhin können drei oder mehr homonuklear gekoppelte Spins höhere Quantenzustände besetzen, welche das MAS nur für den Fall $\omega_R \gg \omega_{D,\mathrm{homo}}$ vollständig ausmittelt, was in der Praxis nicht gegeben ist. Die stärkste homonukleare Kopplung weisen die Protonen auf, diejenige von den ^{15}N kann vernachlässigt werden. Diese Einflüsse können quantitativ nur sehr schwer berechnet werden. Qualitativ lässt sich festhalten, dass die Effekte auf die Seitenbandenmuster bei der Messung von kurzen Abständen (100-120 pm) vernachlässigbar sind und bei Messung von langen Abständen (170-250 pm) desto stärker auftreten können, je mehr homonuklear gekoppelte Protonen im Spinsystem auftreten. Prinzipiell sollte jedoch darauf geachtet werden, eine möglichst hohe Pulsleistung zu verwenden, aber auch eine schnelle MAS-Frequenz zu wählen, um die Multispineffekte zu minimieren. Für Abstandsmessungen im Festkörper sind die Rotoren mit 2.5 mm Außendurchmesser gegenüber denen mit 4 mm zu bevorzugen, da sie schneller gedreht werden können und den Einsatz von kleineren Spulen ermöglichen, die im Allgemeinen eine höhere Pulsleistung erlauben.

4.2.3 Einfluss von Störkopplungen

Gerade in komplexen wasserstoffverbrückten Systemen, gibt es häufig viele heteronukleare Spins in der Umgebung eines detektierten Kerns. In diesem Kapitel wird beschrieben, wie der Einfluss der von mehreren Spins auf das Seitenbandenmuster zu bewerten ist und wie in komplexen Systemen Abstände gemessen werden können.
Das Vorgehen wird am Beispiel der Spingeometrie des Protons H2 der Pyrimidinol-Form und einem HDOR-HH(N)-Experiment verdeutlicht, welche in Abbildung 4.5a gezeigt ist. Das Proton befindet sich in einer Wasserstoffbrücke mit Abständen von 107 pm und 205 pm zu den beiden Stickstoffen. Die Stickstoffe der benachbarten Wasserstoffbrücke sind ebenfalls ^{15}N-markiert und koppeln zu dem zentralen Proton. Ihr Abstand beträgt 243 pm und 305 pm. In den Abbildungen 4.5b bis d ist jeweils ein Vergleich angestellt zwischen dem Seitenbandenmuster (schwarz), welches unter Berücksichtigung aller Kopplung berechnet wurde mit einem Seitenbandenmuster (jeweils in grau), welches nur unter Berücksichtigung der stärksten (b), der beiden stärksten (c) und der drei stärksten Kopplungen (d) berechnet wurde. Dabei ist zu erkennen, dass eine Zweispinnäherung mit nur einer Kopplung ein Seitenbandenmuster ergeben würde, das sich deutlich von der Simulation der 4 Kopplungen unterscheidet. Es gibt

jedoch kaum einen Unterschied zwischen der Simulation mit 2 beziehungsweise 4 Kopplungen und die Muster mit 3 beziehungsweise 4 Kopplungen sind effektiv gleich. Die Sensitivität des Seitenbandenmusters ist immer gegenüber der stärksten Kopplung am größten. Gegenüber der zweitstärksten Kopplung ist die Sensitivität zwar nicht mehr hoch, jedoch groß genug, dass es einen deutlichen Unterschied macht, ob diese Kopplung ganz weggelassen wird oder mit berücksichtigt wird.

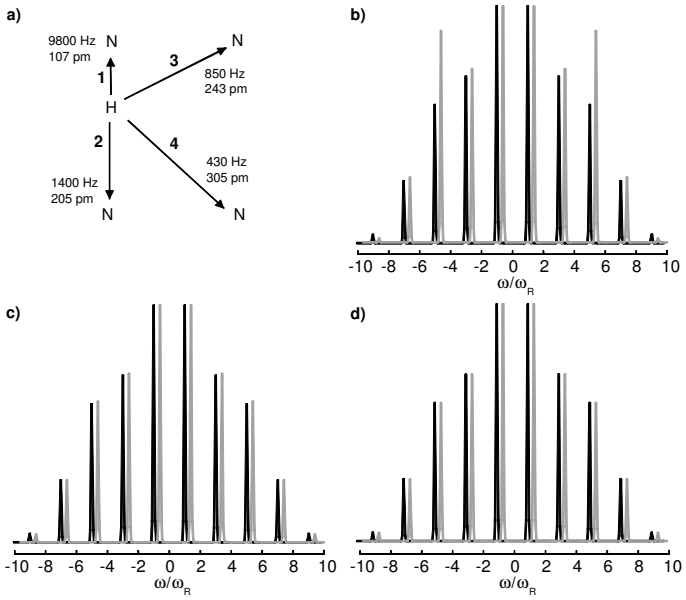


Abbildung 4.5: a) typische Spingeometrie mit zentralem H und vier unterschiedlich stark gekoppelten N. Die Nummerierung geht von hohen zu niedrigen Kopplungen. In b)-d) ist in schwarz das Seitenbandenmuster einer HDOR-HH(N) Simulation (8 Rotorperioden Wiedereinkopplungsblöcke) unter Berücksichtigung aller 4 Kopplungen dargestellt. Zum Vergleich ist in grau das Seitenbandenmuster nur unter Berücksichtigung der Kopplung 1 (b), der Kopplungen 1 und 2 (c) und der Kopplungen 1, 2 und 3 (d) eingetragen.

Dieses Verhalten hat zwei Konsequenzen. Störkopplungen haben keinen großen Einfluss auf die Seitenbandenmuster. Es muss im Einzelfall überprüft werden, wie viele weiter entfernte Spins berücksichtigt werden müssen, bis sich das Seitenbandenmuster nicht mehr signifikant ändert. Weiterhin müssen die Kopplungen der Störspins (und damit ihre Position) nicht exakt bekannt sein, da die Sensitivität der Muster gegenüber schwach gekoppelten Spins sehr gering ist. Der Vorteil ist, dass auch in komplexen Systemen kleine Spinsysteme ausreichen, um die Kopplungsgeometrie um einen Kern ausreichend zu beschreiben. Die zweite Konsequenz ist die Unmöglichkeit einer genauen Messung von schwachen Kopplungen in der Gegenwart von einer starken Kopplung, da die Seitenbandenmuster auf jene nicht mehr stark sensitiv sind. Für das oben dargestellte Spinsystem bedeutet dass konkret, dass mit HH(N)-Seitenbandenexperimenten nur der kurze Abstand von 107 pm präzise messbar ist, der Abstand zum Spin 2 aber mitberücksichtigt werden müsste, wobei die Genauigkeit seiner Mes-

sung wesentlich geringer ist. Weitere, entfernte Störkopplungen üben keinen Effekt mehr auf das Muster aus, ihre Positionen müssen nicht bekannt sein, sie können aber auch nicht gemessen werden.
Die Diskussion wurde am Beispiel eines HDOR-Experiments geführt, für REREDOR gilt Analoges.

4.2.4 Einfluss von Fluktuationen in der Rotationsfrequenz

In diesem Kapitel wird der Einfluss eines experimentellen Parameters diskutiert, den Fluktuationen in der Rotationsfrequenz. Die Rotationsfrequenz wird durch eine automatische MAS-Einheit kontrolliert, ist jedoch Schwankungen unterworfen, die ihre Ursache in Inhomogenitäten des Luftdrucks und in der Güte der Rotoren selbst haben. Die REREDOR- und die HDOR-Sequenzen werden so programmiert, dass die π-Pulse genau alle halbe Rotorperiode angewendet werden, wobei die Dauer einer Rotorperiode dem Mittelwert der tatsächlichen Rotationsfrequenz entspricht. Ist nun die tatsächliche Rotorfrequenz durch die Fluktuationen vom Mittelwert verschieden, so sitzen die π-Pulse nicht mehr exakt an den richtigen Stellen. Da jeder Datenpunkt durch mehrere Scans aufgenommen wird, muss mit einer Verteilung der Abweichungen gerechnet werden. Um diese Fluktuationen mathematisch zu erfassen, wurde ein einfaches Modell entwickelt, welches eine Abweichung der tatsächlichen Rotationsfrequenz mit einer Abweichung der Rotorphasendifferenz $\omega_R t_1$ zwischen Anregungs- und Rekonversionsblock beschreibt. Die Abweichung soll Gauss-verteilt um $\omega_R t_1$ sein mit einer Standardabweichung σ. Für das gemittelte Signal $\bar{S}(t_1)$ gilt dann

$$\bar{S}(t_1) \propto \int_{-\infty}^{\infty} S(t) \exp\left(-\frac{(t-t_1)^2}{2\sigma^2}\right) dt \tag{4.13}$$

mit $S(t)$ aus den Gleichungen (4.4)-(4.8).
Am Beispiel eines HDOR-Experiments ist in Abbildung 4.6 das gemittelte Signal $\bar{S}(t_1)$ und das dazugehörige Seitenbandenmuster für drei verschiedene Standardabweichungen σ gezeigt. Dabei ist deutlich zu erkennen, wie die Oszillationen mit zunehmendem σ „verschmieren“ und die äußeren Seitenbanden niedriger werden beziehungsweise ganz verschwinden.

In der Praxis ist es jedoch schwierig, die Fluktuationen des Rotors wirklich zu messen. Eine Möglichkeit ist, die Fluktuation des Signals für die Berechnung der Rotationsfrequenz zu messen, jedoch ist dieses auch durch die Güte einer per Hand aufgetragenen Filzstiftmarkierung bestimmt und es kann nicht unterschieden werden, ob die Fluktuationen durch den Rotor oder die Detektion der Markierung verursacht wird.

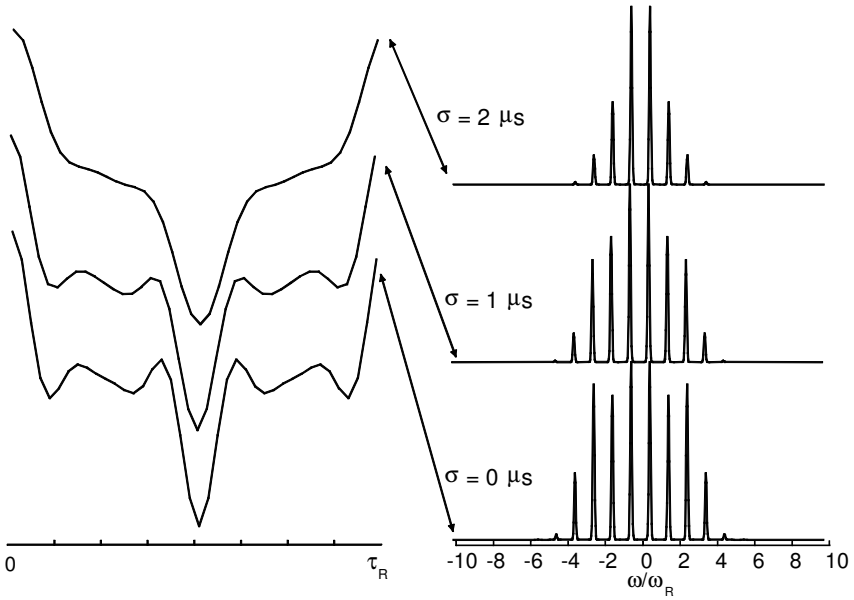


Abbildung 4.6: Zeitsignal (links) und Seitenbandenmuster nach Fourier-Transformation (rechts) für ein HDOR-Experiment mit einer Kopplung von 10000 Hz, jeweils 8 Rotorperioden Wiedereinkopplungszeit und einer Rotorperiode von 33.6 µs für eine Standardabweichung σ=0 µs, 1 µs und 2 µs. Die Seitenbandenmuster zeigen eine deutliche Abnahme in den äußeren Seitenbanden mit steigendem σ.

Um dieses Problem zu untersuchen, wurde eine Kalibrierung durchgeführt. Dabei wurde die Quadrupolkopplung von einem Polycarbonat, dessen Methylgruppen deuteriert waren, als Referenz eingesetzt. Die Quadrupolkopplung der Methylgruppe wurde durch statische Messung des Pake-Pattern zu $\delta_Q/2\pi$ =39 kHz bestimmt. Anschließend wurde die Quadrupolkopplung erneut mit einem Seitenbandenexperiment unter MAS von ν_R=29762 Hz vermessen. Dieses geschah mit Hilfe der Back-to-Back-Pulssequenz (siehe Kapitel 3.4), die durch $t_1 \neq 0$ in Abbildung 3.4 in ein Seitenbandenexperiment umgewandelt wird (siehe Kapitel 5.1 und [Schnell 01]). Für den Einfluss von Rotationsfluktuationen in Seitenbandenexperimenten gelten die gleichen Überlegungen unabhängig von der zu Grunde liegenden Pulssequenz (REDOR/BaBa). Die Messung geschah einmal mit einem „guten“ Rotor, bei dem neues Material zum Einsatz kam und einmal in einem „schlechten“ Rotor, dessen Stabilität durch den Einsatz einer defekten Rotorkappe künstlich verringert wurde. In Abbildung 4.7 sind die jeweils erhaltenen Seitenbandenmuster gezeigt. Das Seitenbandenmuster des „guten“ Rotors (a) konnte mit der korrekten Kopplung von 39 kHz und einer Standardabweichung σ=0 µs gefittet werden. Das bedeutet, dass die Fluktuationen des „guten“ Rotors gering genug sind, um keinen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis zu haben. Das Muster des „schlechten“ Rotors (b und c) unterscheidet sich deutlich, insbesondere in den äußeren Seitenbanden. Würde es mit σ=0 µs gefittet werden (c), so würde eine Kopplung von rund 24.5 kHz erhalten werden, was deutlich zu niedrig ist. Es ist anzumerken, dass die Abweichungen zwischen Simulation und Experiment in einigen Seitenbanden sehr hoch sind. Würde die Referenz-

kopplung von 39 kHz benutzt werden, so kann das experimentelle Muster sehr gut mit σ=0.85 µs simuliert werden. Es soll jedoch betont werden, dass dieser drastische Effekt künstlich herbeigeführt wurde, da absichtlich defektes Material verwendet wurde und das Seitenbandenmuster sehr breit ist und stark auf die Gauss-Mittelung reagiert.

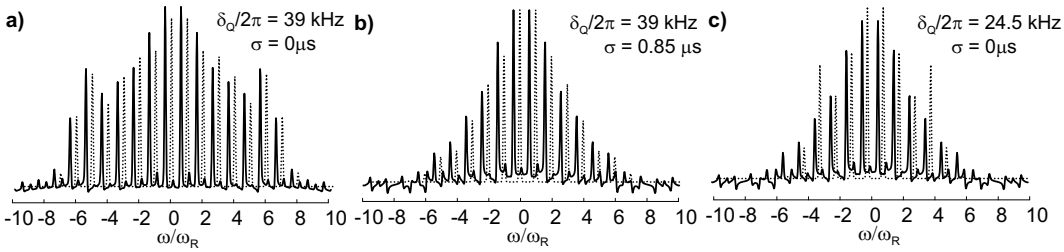


Abbildung 4.7: Experimentelle (durchgezogene Linie) und simulierte (gepunktete Linie) Back-to-Back-Seitenbandenmuster mit 4 Rotorperioden Wiedereinkopplungszeit von der CD_3-Gruppe in deuteriertem Polycarbonat. a) Stabil drehender Rotor, b) und c) künstlich instabil drehender Rotor. Während a) mit der korrekten Kopplung von 39 kHz und σ=0 µs gefittet wurde, musste für b) ein Wert σ=0.85 µs verwendet werden. Würde für c) eine Abweichung von σ=0 µs angenommen, so ergäbe der beste Fit eine falsche Quadrupolkopplung von 24.5 kHz.

Für Seitenbandenexperimente können folgende Schlüsse gezogen werden. Die Stabilität der Rotation hat einen Einfluss auf die Seitenbandenmuster. Dieser Effekt kann minimiert werden, wenn auf die Verwendung von intaktem Material und das sorgfältige Anbringung einer geraden Markierung geachtet wird. Es ist ein Modell aufgestellt worden, welches die Einflüsse von Rotationsfluktuationen qualitativ abschätzen kann. Allgemein lässt sich feststellen, dass der Effekt mit zunehmender Wiedereinkopplungsdauer und zunehmender Breite des Seitenbandenmusters stärker wird. Für lange Wiedereinkopplungszeiten wurde in dieser Arbeit das REREDOR-Experiment verwendet, welches wesentlich unempfindlicher auf die Gauss-Mittelung reagiert als das HDOR-Experiment. Für Seitenbandenmuster von „moderater Breite“, wie sie in dieser Arbeit gemessen wurde, sind keine Verfälschungen der Ergebnisse zu erwarten, da die statistischen Fehler durch das Signal-zu-Rausch-Verhältnis in der Regel wesentlich größer sind.

4.3 ^{1}H-^{15}N-Abstandsbestimmungen in den Ureido-Pyrimidinonen

4.3.1 Quantenchemische Rechnungen[1]

Es wurden quantenchemische Rechnungen durchgeführt mit dem Ziel, experimentelle und theoretische Methoden miteinander zu vergleichen und gleichzeitig die vollständige Struktur des komplexen wasserstoffverbrückten Systems aufzuklären, da die NMR-Methoden nur die Abstände zwischen ^{15}N und ^{1}H messen können. Für die Rechnungen kamen verschiedene Methoden zum Einsatz, um deren jeweilige Leistungsstärke zu testen. Die Gleichgewichtsgeometrien wurden berechnet mit der Møller-Plesset-Störungstheorie 2.Ordnung (MP2) [Møller 34] und der Dichtefunktionaltheorie (DFT) [Parr 89] in Kombination mit polarized split-valence (SVP) [Schäfer 92] und polarized triple-valence (TZVP) [Schäfer 94] Basissätzen. In beiden Fällen kam die „Resolution of Identity"-Näherung (RI) [Eichkorn 95] zum Einsatz, um Rechenzeit zu sparen. Für die DFT-Rechnungen wurde das BLYP-Funktional [Becke 88, Lee 88] verwendet, welches sich für die Anwendung auf Wasserstoffbrücken bewährt hat[Sprik 96]. Die gewählten Methode/Basissatz-Kombinationen wurden in einer Kalibrierungsstudie an einfachen Modellsystemen, wie dem Dimer des Formamidins, überprüft. Daraus kann für die langen Abstände in Wasserstoffbrücken ein Fehler von etwa ±5 pm und für die kurzen von etwa ±1 pm abgeschätzt werden.
Die Rechnungen wurden am Dimer der Pyrimidinon-Form **1'** und der Pyrimidinol-Form **2'** durchgeführt (siehe Abbildung 4.1). Gegenüber den experimentellen Strukturen **1** und **2** wurde für die aliphatischen Reste R^1 und R^2 eine CH_3-Gruppe verwendet, um den Rechenaufwand gering zu halten. Für die Pyrimidinon-Form ist eine Röntgenstruktur verfügbar [Söntjens 01], mit der eine „optimierte Röntgenstruktur" berechnet wurde, in dem die schwereren Atome C, N und O ortsfest gehalten wurden und nur die Positionen der Wasserstoffatome während der Geometrieoptimierung relaxierten. Alle Rechnungen wurden mit dem TURBOMOLE-Programmpaket [Ahlrichs 89] durchgeführt.
Die Ergebnisse der Rechnungen sind zusammen mit den experimentellen Werten zu Beginn der folgenden Kapitel vermerkt.

4.3.2 NMR-Strukturbestimmung an der Pyrimidinon-Form

Die berechnete Struktur und die dazugehörenden Abstände zeigen Abbildung 4.8 und Tabelle 4.1. Basierend auf der berechneten Struktur wurden nun Abstände mit den NMR-Methoden REREDOR und HDOR ermittelt. Jeder Abstand wurde mit mindestens drei Experimenten mit verschiedenen Wiedereinkopplungszeiten gemessen, um die Genauigkeit abzuschätzen, wobei

[1] Die Rechnungen wurden von Thorsten Metzroth im Arbeitskreis von Prof. Jürgen Gauss an der Universität Mainz durchgeführt.

in allen Fällen konsistente Ergebnisse erhalten wurden. Generell wurden für die Bestimmung der kovalenten (kurzen) Abstände Wiedereinkopplungszeiten von 4 bis 8 Rotorperioden verwendet, während die langen Abstände mit Wiedereinkopplungszeiten von 12 bis 30 Rotorperioden gemessen wurden. Die MAS-Frequenz betrug in allen Fällen 29762 Hz, was einer Rotorperiode von 33.6 µs entspricht.

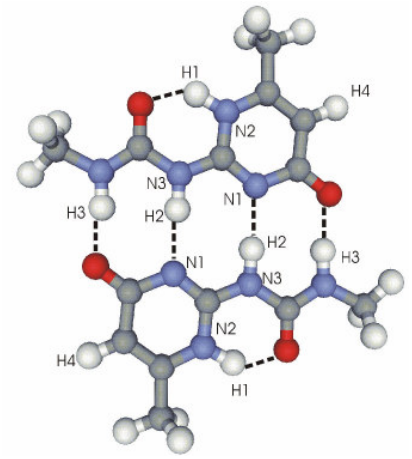


Abbildung 4.8: Berechnete Struktur des Pyrimidinon-Systems

Das Pyrimidinon-System enthält zwei intermolekulare N-H···N-Brücken, 2 intermolekulare N–H···O-Brücken und zwei intramolekulare N–H···O-Brücken, die aus Symmetriegründen jeweils untereindander äquivalent sind.

Tabelle 4.1: Experimentelle und berechnete Abstände in der Pyrimidinon-Form in pm.

Abstand	NMR	Volloptimiert (**1'**)		optimierte Röntgenstruktur	
	r_{eff}	DFT	MP2	DFT	MP2
H2-N1	201 (±5)	197	192	192	193
H2-N3	107.5 (±1)	104	104	104	104
H1-N2	107.0 (±1)	104	104	105	104
H3-N1	280 (±20)	293	286	279	280
H3-N3	240 (±15)	250	248	248	247

Die zentrale N–H···N-Wasserstoffbrücke. Die beiden zentralen N3–H2···N1-Bindungen sind voll ^{15}N-markiert, und Informationen können durch Detektion jedes einzelnen der drei Kerne gewonnen werden. Als erstes wird der kovalente N3–H3-Abstand durch stickstoffdetektierte REREDOR-NN(H) und HDOR-NN(H) bestimmt (Abbildung 4.9a und b). Die experimentellen Daten wurden zuerst mit einem einfachen 2-Spinsystem simuliert, wodurch Abstände von 107.5 pm (REREDOR-NN(H)) und 108 pm (HDOR-NN(H)) erhalten wurden. Die stärksten Störspins sind die Protonen H3 und H1, welche etwa 250 pm entfernt sind, was durch die quantenchemischen Rechnungen bekannt ist. Werden diese Störungen in einem Vierspinsystem mitberücksichtigt, ist kein signifikanter Einfluss auf die Seitenbandenmuster

erkennbar und auch die Hinzunahme des Protons H2 aus der benachbarten Wasserstoffbrücke zeigt keinen weiteren Effekt. Folglich kann die effektive kovalente Bindungslänge durch die Zweispinnäherung zuverlässig bestimmt werden. Weitere REREDOR-NN(H)- und HDOR-NN(H)- Experimente mit unterschiedlichen Wiedereinkopplungszeiten liefern alle Werte im Bereich von 107.5 pm mit einem Fehlerbereich von etwa ±1 pm. Trotz der methodischen Unterschiede zwischen REREDOR und HDOR sind die Ergebnisse innerhalb der Fehlergrenzen gleich und beide Experimente eignen sich zu Messung von kovalenten Bindungsabständen in Wasserstoffbrücken. In der berechneten Struktur beträgt der N3-H2-Abstand nur 104 pm. Diese Abweichung von 3.5 pm zwischen Theorie und Experiment ist deutlich größer als die Unsicherheit beider Methoden und kann mit Schwingungseffekten erklärt werden. Eine ausführliche Diskussion findet sich in Kapitel 4.3.4.

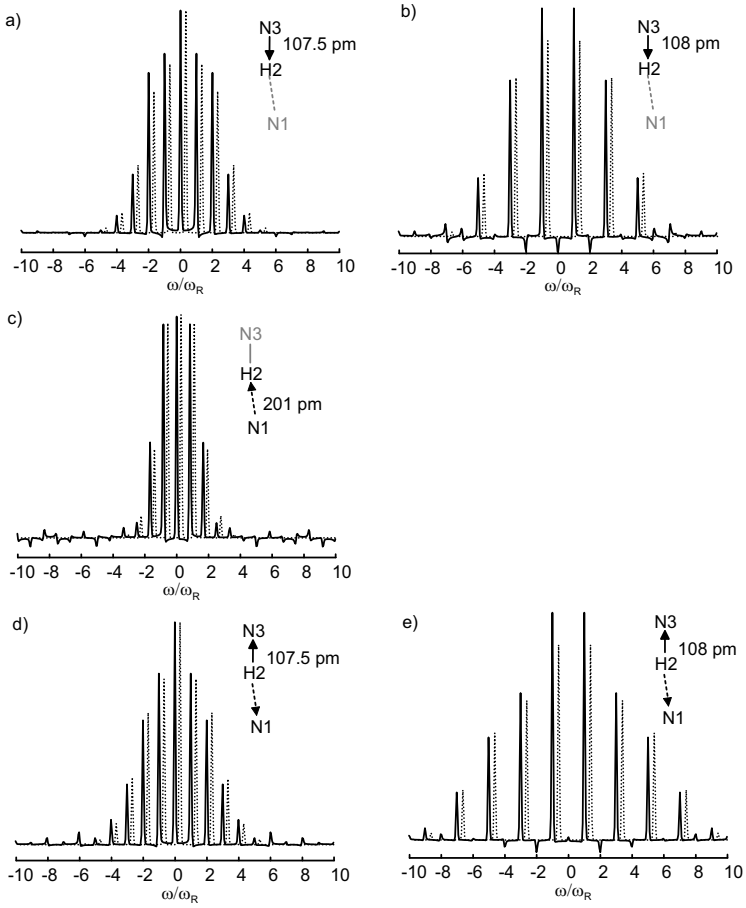


Abbildung 4.9: Experimentelle (durchgezogene Linie) und simulierte (gepunktete Linie) Seitenbandenmuster der zentralen N3–H2···N1-Brücke. a) REREDOR-NN(H) von N3 mit Wiedereinkopplungsblöcken von jeweils 4 Rotorperioden, b) HDOR-NN(H) von N3, 6 Rotorperioden, c) REREDOR-NN(H) von N1, 24 Rotorperioden, d) REREDOR-HH(N) von H2, 4 Rotorperioden und e) HDOR-HH(N) von H2, 8 Rotorperioden.

Abbildung 4.9c zeigt ein REREDOR-NN(H) von dem N1-Kern mit Wiedereinkopplungsblöcken von jeweils 16 Rotorperioden. Aus diesem Experiment soll der lange N1···H2-Abstand bestimmt werden. Für den Fall des einfachen Zweispinsystems würde aus der Simulation 191 pm ermittelt werden. Aus den Rechnungen sind die Entfernungen der nächsten Protonen H2 und H3 der benachbarten Wasserstoffbrücken als etwa 245 pm und 290 pm bekannt. Wenn diese Störkopplungen in einem Vierspinsystem mit berücksichtigt werden, so wird ein N1···H2-Abstand von 201 pm erhalten, der 10 pm länger als das Ergebnis der Zweispinnäherung ist. Die Genauigkeit der Messungen ist bei etwa ±5 pm. Dieses Ergebnis zeigt, dass es in komplexen wasserstoffverbrückten Systemen notwendig werden kann, Störkopplungen zu berücksichtigen, um zu genauen Ergebnissen zu gelangen. Da die Sensitivität der Seitenbandenmuster gegenüber den schwächeren Störkopplungen viel geringer ist als zu der stärkeren Hauptkopplung, genügt meistens eine grobe Kenntnis der Positionen von Störspins, um die Hauptkopplung akkurat bestimmen zu können. Der Wert aus den quantenchemische Rechnungen für diesen Abstand beträgt etwa 194 pm.

Basierend auf den Ergebnissen der ^{15}N-detektierten Experimenten, wird nun die Wasserstoffbrücke vom zentralen Proton aus gemessen. Abbildung 4.9d und e zeigen verschiedene REREDOR-HH(N)- und HDOR-HH(N)-Experimente mit unterschiedlichen Wiedereinkopplungszeiten. Wie oben erläutert, können die Seitenbandenmuster nur zur Bestimmung der stärksten Kopplung verwendet werden. Für die schwache Kopplung zum Stickstoff N1 wurde der Wert aus dem REREDOR-NN(H)-Experiment genommen. Der H2–N3-Abstand ist in allen Experimenten zu 107.5 pm bis 108 pm bestimmt worden, was in Einklang mit den NN(H)-Messungen steht.

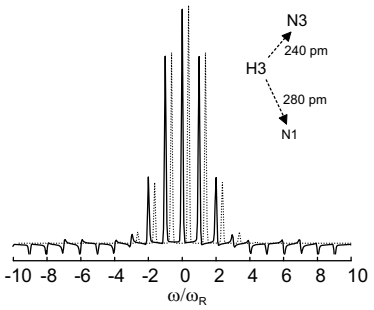


Abbildung 4.10: Experimentelles (durchgezogene Linie) und simuliertes (gepunktete Linie) Seitenbandenmuster der äußeren N–H3···O-Brücke. REREDOR-HH(N) von H3 mit Wiedereinkopplungsblöcken von jeweils 24 Rotorperioden. Der Abstand wird zu N3 und N1 der benachbarten Wasserstoffbrücke gemessen.

Die äußere N–H···O-Wasserstoffbrücke. In dieser N–H3···O-Brücke ist der Stickstoff nicht ^{15}N-markiert und der einzig NMR-aktive Kern ist das Proton H3. Die nächsten ^{15}N-Nachbarn sind die Kerne N3 und N1 der benachbarten Wasserstoffbrücke, die nach den quantenchemischen Rechnungen einen Abstand von 248 pm und 285 pm haben. Abbildung 4.10 zeigt ein Seitenbandenmuster, welches zu einer Rechnung mit Abständen von 240 pm und 280 pm

passt. Das Problem bei diesem Experiment ist die geringe chemische Verschiebungsdifferenz von 1 ppm zwischen den Protonen H2 und H3. Im Spektrum ist der H2-Peak sehr breit und überlappt mit dem wesentlich schmaleren H3-Peak, so dass die Seitenbandenmuster durch Subtraktion der H2-Anteile korrigiert werden müssen, was in der Praxis schwierig ist und keine genauen Messungen zulässt. Die Unsicherheit der Werte ist daher sehr groß, sie ist mit etwa ±15 pm beziehungsweise ±20 pm anzugeben und die experimentelle Messung kann die berechneten Werte nur grob bestätigen. (Es sei noch angemerkt, dass umgekehrt der H2-Peak vom H3-Peak nicht beeinflusst wird und die H2-Muster nicht korrigiert werden müssen.) In Kapitel 4.3.3 wird am Beispiel der Pyrimidinol-Form gezeigt, dass bei ausreichender chemischer Verschiebungsdifferenz von 2 ppm auch N–H-Abstände bis zu 250 pm mit hoher Genauigkeit von ±5 pm messbar sind.

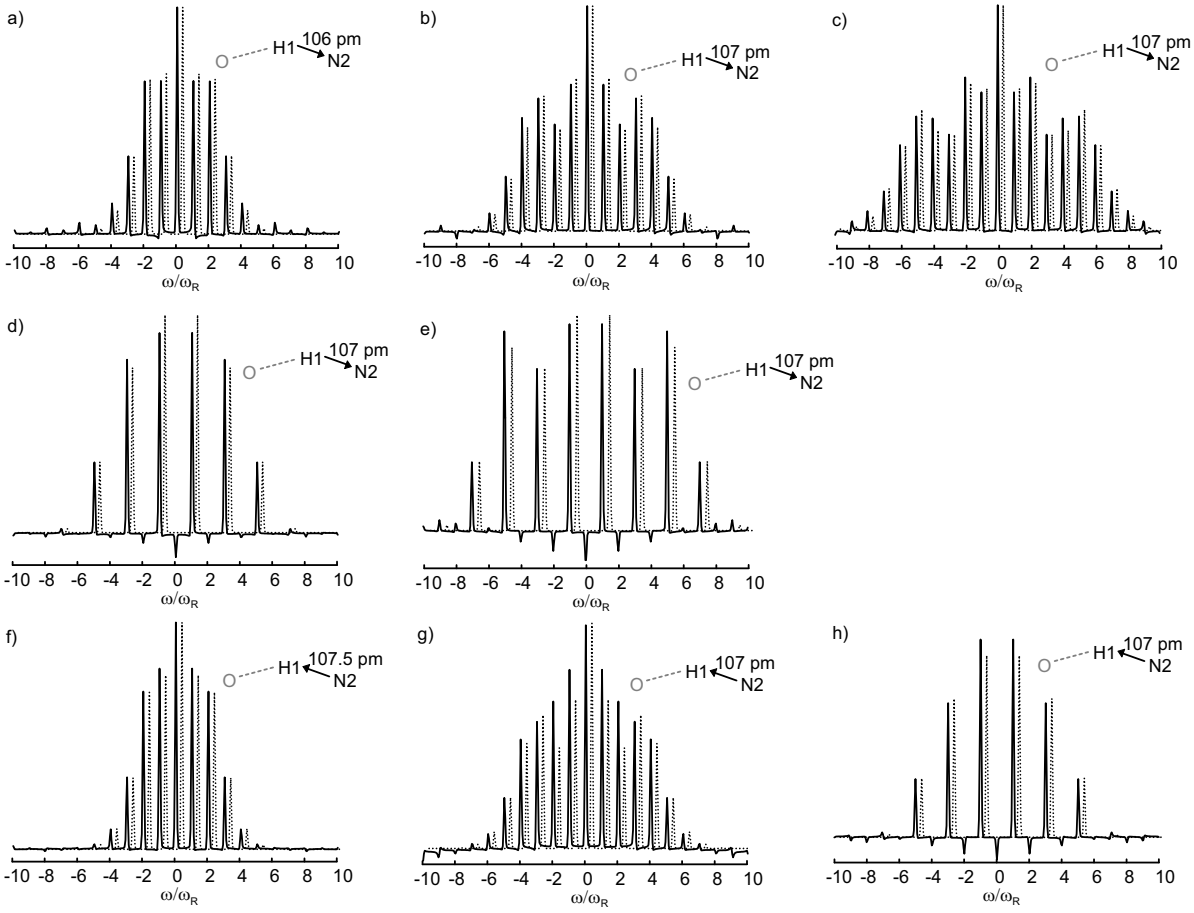


Abbildung 4.11: Experimentelle (durchgezogene Linie) und simulierte (gepunktete Linie) Seitenbandenmuster der intramolekularen N2–H1···O-Brücke. a) REREDOR-HH(N) von H1 mit Wiedereinkopplungsblöcken von jeweils 4 Rotorperioden, b) REREDOR-HH(N) von H1, 6 Rotorperioden, c) REREDOR-HH(N) von H1, 8 Rotorperioden, d) HDOR-HH(N) von H1, 6 Rotorperioden, e) HDOR-HH(N) von H1, 8 Rotorperioden, f) REREDOR-NN(H) von N2, 4 Rotorperioden, g) REREDOR-NN(H) von N2, 6 Rotorperioden und h) HDOR-NN(H) von N2, 6 Rotorperioden.

Die intramolekulare N–H···O-Wasserstoffbrücke. In der Pyrimidinon-Form ist die intramolekulare Wasserstoffbrücke eine ^{15}N-markierte N2–H1···O-Brücke. Die kovalente N2–H1-Bindung kann entweder vom Stickstoff oder vom Wasserstoff aus mit REREDOR oder HDOR vermessen werden. Abbildung 4.11 zeigt eine ganze Reihe dieser Experimente mit unterschiedlichen Wiedereinkopplungszeiten, um die Reproduzierbarkeit und Genauigkeit dieser Messungen zu demonstrieren. Die Wasserstoffbrücke ist isoliert genug, dass mit der 2-Spinnäherung gearbeitet werden kann. Der Einfluss der Störkopplung zu N3 in den ^{1}H-detektierten Messungen ist nicht signifikant. Die Bindungslänge wird zu (107±1) pm bestimmt, verglichen mit 104 pm aus den quantenchemischen Rechnungen.

4.3.3 NMR-Strukturbestimmung an der Pyrimidinol-Form

Die berechnete Struktur und die dazugehörenden Abstände zeigen Abbildung 4.12 und Tabelle 4.2.

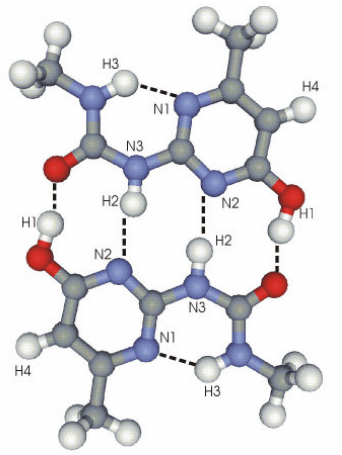


Abbildung 4.12: Berechnete Struktur des Pyrimidinol-Systems

Tabelle 4.2: Experimentelle und berechnete Abstände in der Pyrimidinol-Form in pm.

Abstand	NMR	Volloptimiert (**2'**)	
	r_{eff}	DFT	MP2
H3-N1	183 (±5)	192	189
H2-N3	107 (±1)	103	103
H2-N2	205 (±5)	203	198
H1-N2	238 (±5)	242	240
H1-N3	290 (±20)	298	295

Für die Pyrimidinol-Form ist keine Röntgenstruktur verfügbar, so dass nur die Methode der vollständigen Geometrieoptimierung zum Einsatz kam. Der Vergleich zwischen DFT und MP2 zeigt wie bei der Pyrimidinon-Form eine gute Übereinstimmung in den Ergebnissen. Bemerkenswert ist, dass sogar die langen Abstände H1–N2 und H1–N3 jeweils innerhalb von

3 pm liegen. Basierend auf diesen Rechnungen wurde die Pyrimidinol-Form **2** mit dem gleichen Vorgehen wie bei der Pyrimidinon-Form experimentell vermessen. Das wasserstoffverbrückte System besteht aus zwei zentralen N–H···N-Brücken, 2 äußeren O-H···O-Brücken und 2 intramolekularen N–H···N-Brücken, die jeweils aus Symmetriegründen äquivalent sind.

Die zentrale N–H···N-Wasserstoffbrücke. Die zentrale N3-H2···N2-Brücke ist an beiden Stickstoffen ^{15}N-markiert und kann mit der gleichen Strategie, wie schon bei der Pyrimidinon-Form untersucht werden. Abbildung 4.13a zeigt ein HDOR-NN(H)-Experiment von N3 mit Wiedereinkopplungsblöcken von jeweils 6 Rotorperioden. Die Simulation mit einem Zweispinsystem ergibt eine effektive Bindungslänge von 107.5 pm, was mit den Werten aus der Pyrimidinon-Form übereinstimmt und mit den 103 pm aus den berechneten Strukturen verglichen werden muss. Bei den experimentellen Seitenbandenmustern (sowohl HDOR als auch REREDOR) der Pyrimidinol-Form wurde eine starke Überhöhung der Seitenbanden erster Ordnung beobachtet, die sich nicht durch die Simulationen generieren ließ. Dieser Effekt trat bei den Untersuchungen an Pyrimidinon-Form und Cytosin-Monohydrat (siehe Kapitel 4.4.2) nur in geringem Ausmaß auf. Die Ursache dieses Effekts ist noch nicht vollständig geklärt, ein Problem mit Fluktuationen in der Rotationsfrequenz kann jedoch ausgeschlossen werden, da sichergestellt wurde, dass die Qualität der Rotation bei den Messungen an den verschiedenen Systemen vergleichbar gut war. Dieser Effekt scheint mit der Verbindung und ihrem dipolaren ^{1}H-^{1}H-Kopplungsnetzwerk zusammenzuhängen, da er in ähnlicher Form auch bei den ^{1}H-^{1}H-Abstandsmessungen (Kapitel 5.2) auftrat. Während die physikalische Ursache dieser Überhöhung der Seitenbanden erster Ordnung noch Gegenstand weiterer Untersuchungen ist, so können dennoch, wie die Ergebnisse zeigen, aus den Experimenten zuverlässige Daten erhalten werden, wenn die inneren Seitenbanden vom Fit ausgenommen werden. Es ist jedoch wichtig, dass die Wiedereinkopplungszeit genügend lang gewählt ist, um eine ausreichende Zahl an Seitenbanden zu generieren. Für diesen Fall scheint das REREDOR-Experiment besser geeignet zu sein, da es bei gleicher Wiedereinkopplungszeit mehr Seitenbanden produziert als das HDOR-Experiment (siehe Abbildung 4.4).

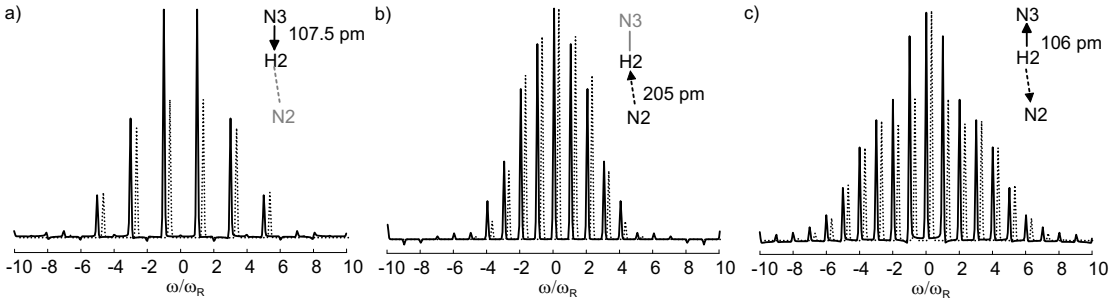


Abbildung 4.13: Experimentelle (durchgezogene Linie) und simulierte (gepunktete Linie) Seitenbandenmuster der zentralen N3–H2···N2-Brücke. a) HDOR-NN(H) von N3 mit Wiedereinkopplungsblöcken von jeweils 6 Rotorperioden, b) REREDOR-NN(H) von N2, 20 Rotorperioden und c) REREDOR-HH(N) von H2, 6 Rotorperioden.

Der lange N2···H2-Abstand wird mit REREDOR-NN(H) gemessen. Abbildung 4.13b zeigt ein Beispiel mit je 20 Rotorperioden Wiedereinkopplungzeit. In dieser Geometrie sind die Protonen H1 und H2 die stärksten Störspins. Bei der Anwendung der gleichen Prozedur wie bei der Pyrimidinol-Form liefert die Simulation eines einfachen Zweispinsystems einen Abstand von 189 pm und die Simulation des Vierspinsystems einen Abstand von 205 pm (im Vergleich zu 198-203 pm aus den quantenchemischen Rechnungen). Die Positionen der Störspins wurden aus den Rechnungen erhalten. In diesem Fall würde eine Vernachlässigung der entfernten Kopplungen zu einem Unterschied von 16 pm führen, was noch einmal die Wichtigkeit der Berücksichtigung und die Ergänzung zwischen Experiment und Theorie verdeutlicht, um die gemessenen Daten korrekt zu interpretieren.

Abbildung 4.13c zeigt ein REREDOR-HH(N)-Seitenbandenmuster von dem zentralen H2. Die inneren Seitenbanden sind wiederum gegenüber der Simulation überhöht und wurden für den Fit vernachlässigt. Ergebnisse von diesem und anderen HH(N)-Experimenten liegen im Bereich von 106-107 pm, was leicht unter dem Wert von 107.5 pm aus dem NN(H)-Experimenten liegt. Im Rahmen der Unsicherheit ist diese Abweichung jedoch nicht signifikant und für die kovalente Bindungslänge wird (107±1) pm angegeben.

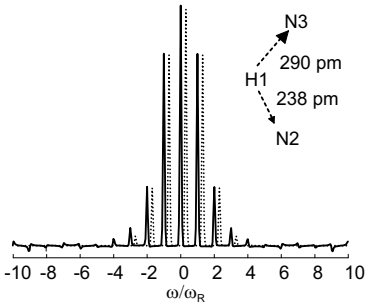


Abbildung 4.14: Experimentelles (durchgezogene Linie) und simuliertes (gepunktete Linie) Seitenbandenmuster der äußeren O–H1···O-Brücke. REREDOR-HH(N) von H1 mit Wiedereinkopplungsblöcken von jeweils 24 Rotorperioden.

Die äußere O–H···O-Wasserstoffbrücke. Analog zur Pyrimidinon-Form ist der einzige detektierbare Kern das zentrale Proton, dessen stärkste Kopplungen zu den Stickstoffen N2 und N3 gehen. Abbildung 4.14 zeigt ein REREDOR-HH(N) mit Wiedereinkopplungsblöcken von 24 Rotorperioden. Die Simulation wurde mit einem N···H···N-Dreispinsystem durchgeführt, wobei der NHN-Winkel aus der berechneten Struktur entnommen wurde. Die Muster sind jedoch nicht sehr sensitiv auf diesen Winkel, so dass eine grobe Abschätzung ausreicht. Die H1···N2-Kopplung ist etwa doppelt so stark wie die H1···N3-Kopplung. Die Seitenbandenmuster reagieren folglich sehr sensitiv auf den H1···N2-Abstand, welcher präzise bestimmt werden kann. Der H1···N3-Abstand kann nur mit geringer Genauigkeit aus den Mustern extrahiert werden. Die experimentellen Daten liefern einen H1···N2-Abstand von (238±5) pm und einen H1···N3-Abstand von (290±20) pm, was bemerkenswert gut mit den berechneten

Daten von 240-242 pm beziehungsweise 295-298 pm übereinstimmt. Dieses Ergebnis demonstriert, dass mit REREDOR-Wiedereinkopplungsmethoden lange N–H-Abstände bis zu 250 pm präzise bestimmt werden können, unabhängig davon, ob die beiden Kerne über eine (Wasserstoff-)Bindung verknüpft sind oder nicht.

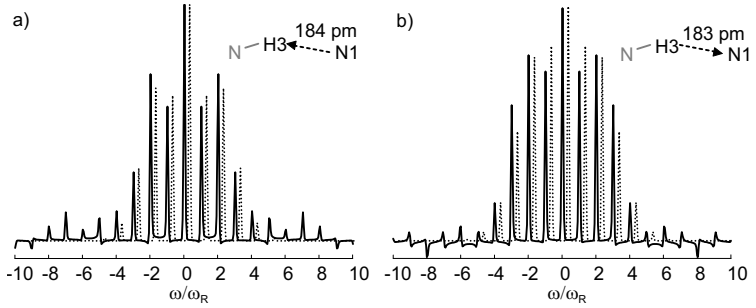


Abbildung 4.15: Experimentelle (durchgezogene Linie) und simulierte (gepunktete Linie) Seitenbandenmuster der intramolekularen N–H3···N1-Brücke. a) REREDOR-NN(H) von N1 mit Wiedereinkopplungsblöcken von jeweils 20 Rotorperioden, b) REREDOR-HH(N) von H3, 20 Rotorperioden.

Die intramolekulare N–H···N-Wasserstoffbrücke. In dieser N–H3···N1-Brücke ist der kovalent gebundene Stickstoff nicht ^{15}N-markiert. Da die H3···N1-Bindung relativ isoliert von Störspins ist, ermöglicht diese Wasserstoffbrücke einen Vergleich zwischen ^{15}N-detektierten und ^{1}H-detektierten Messungen bei einem langen Bindungsabstand. Abbildung 4.15 zeigt Seitenbandenmuster, generiert mit jeweils 20 Rotorperioden, eines REREDOR-NN(H) und eines REREDOR-HH(N). Das erste Experiment konnte mit der Zweispinnäherung simuliert werden, beim zweiten wurde die Störkopplung zu N1 berücksichtigt. Die Auswertung ergibt (183±5) pm für das ^{15}N-detektierte und (184±5) pm für das ^{1}H-detektierte Experiment, in zufriedenstellender Übereinstimmung mit 189-192 pm aus den Rechnungen. Insbesondere für komplexe Systeme ist es wichtig, dass für beide Detektionswege die gleichen Ergebnisse erhalten werden, da häufig durch die Kopplungsgeometrie und das Vorhandensein von Störspins ein Detektionsschema bevorzugt ist. Dessen Ergebnisse können dann als Input für weitere Messungen dienen. Ein einfaches Beispiel für solch eine Strategie war die Analyse der zentralen N–H···N-Wasserstoffbrücke, bei der der N-detektierte N···H-Abstand als Randbedingung für die Auswertung des H-detektierten H–N-Abstandes benutzt wurde.

4.3.4 Berechnete und gemessene Strukturen: Die Bedeutung von Schwingungskorrekturen

In den vorangegangenen Kapiteln wurde gezeigt, wie sich N–H-Abstände in Wasserstoffbrücken mit Pikometer-Genauigkeit durch Wiedereinkopplung der Dipol-Dipol-Wechselwirkung messen lassen. Gleichzeitig sind quantenchemische Rechnungen durchgeführt worden, die ebenfalls Pikometer-Genauigkeit haben. Im Folgenden werden die Ergebnisse beider Metho-

den miteinander verglichen und der Einfluss von Schwingungsmittelungen auf die experimentellen Daten diskutiert.
Ein offensichtliches Beispiel ist die Länge der kovalenten N–H-Bindung, welche in den NMR-Experimenten als (107±1) pm bestimmt wurde, während die quantenchemischen Rechnungen etwa (103.5±1) pm liefern. Die Unsicherheit der quantenchemischen Methoden kann beispielsweise durch Vergleich von berechneten N–H-Abständen in Ammoniak mit experimentellen r_e-Werten abgeschätzt werden [Bak 01]. Es soll noch einmal betont werden, dass die Unterschiede in den kovalenten Bindungsabständen zwischen Experiment und Theorie größer sind als die Fehler, die beiden Methoden zugestanden sind.
Die Tatsache, dass die Theorie einen kürzeren Abstand liefert, liegt an der Bewegung der Kerne, welche in den quantenchemischen Rechnungen nicht berücksichtigt wird. Die experimentellen Daten werden über die Dipol-Dipol-Kopplung gemessen, welche durch Kernbewegungen signifikant beeinflusst wird [Henry 85, Ishii 97]. Die Abhängigkeit der effektiven Dipol-Dipol-Kopplung vom zeitgemittelten Kern-Kern-Vektor lautet

$$\left\langle D_{ij} \right\rangle_t \propto \left\langle r_{ij}^{-3} \cdot \tfrac{1}{2}\left(3\cos^2\theta - 1\right) \right\rangle_t \tag{4.14}$$

mit dem Winkel θ zwischen der instantanen Bindungsachse und der Gleichgewichtsbindungsachse. In guter Näherung kann die $\left\langle r_{ij}^{-3} \right\rangle_t$-Abhängigkeit mit Streckschwingungen und die Winkelabhängigkeit mit Torsionsschwingungen, die eine Bewegung der Bindungsachse weg von der Gleichgewichtsachse verursachen, identifiziert werden.
Für kovalente N–H-Bindungen in Wasserstoffbrücken hat D. Case [Case 99] den Einfluss von Schwingungen unter Berücksichtigung von Nullpunktsschwingungseffekten auf die Dipol-Dipol-Kopplung untersucht. In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die Streckschwingungen nur einen geringen Einfluss auf die Kopplungstärke haben, da sich im Wesentlichen zwei gegenläufige Effekte kompensieren. Zum einen führt bei der Berücksichtigung einer Streckschwingung die $\left\langle r_{ij}^{-3} \right\rangle_t$-Abhängigkeit zu einer Erhöhung der effektiven Dipol-Dipol-Kopplung, zum anderen wird die mittlere Bindungslänge $\left\langle r_{ij} \right\rangle_t$ durch die Asymmetrie des Energiepotentials größer, was zu einer Erniedrigung der effektiven Dipol-Dipol-Kopplung führt. Die Kombination beider Effekte führt zu einer Erniedrigung der Kopplung um etwa 1.5 %, was einer Vergrößerung der effektiven kovalenten Bindungslänge, wie sie in den NMR-Experimenten gemessen wird, um etwa 0.5 pm entspricht.

Die Torsionsschwingungen führen zu einer ständigen Reorientierung des Bindungsvektors, was grundsätzlich eine Erniedrigung der Dipol-Dipol-Kopplung nach sich zieht. Dieser Effekt reduziert die effektive Kopplung um ungefähr 7%, gleichbedeutend mit einer Vergrößerung

des effektiven Abstandes um etwa 2.5 pm. Werden beide Schwingungseffekte berücksichtigt, so würde ein Gleichgewichtsabstand von 103.5 pm aus quantenchemischen Rechnungen mit einem effektiven Abstand von 106.5 pm korrespondieren, was in Einklang mit den Ergebnissen der Ureido-Pyrimidinone steht. Interessant ist, dass die Nullpunktsschwingungseffekte die wesentlichen Beiträge liefern, während zusätzliche Temperatureffekte eine Größenordnung kleiner sind.

Selbstverständlich haben Schwingungen auch einen Einfluss auf die Messung der langen Abstände in Wasserstoffbrücken. Jedoch ist bei diesen die Genauigkeit der Messungen und Rechnungen mit ±5 pm nicht hoch genug, um die Effekte zu identifizieren. Wie schon in Kapitel 4.2.2 angesprochen, stammen die experimentellen Fehler zum großen Teil aus zusätzlichen homonuklearen Proton-Proton-Kopplungen, welche sich unter dem Einfluss endlicher Pulse nicht vollständig ausmitteln. Homonuklear gekoppelte Multispinsysteme können weiterhin Quantenzustände höherer Ordnungen erreichen, die sich formal nur für sehr hohe MAS-Frequenzen ausmitteln. Die Störungen durch homonukleare Kopplungen werden für schwache heteronukleare Kopplungen und den damit verbundenen langen Wiedereinkopplungszeiten größer.

Es sind bisher noch keine Arbeiten aus dem Bereich der theoretischen Chemie zum Einfluss von Schwingungen auf die langen Abstände veröffentlicht worden. In Kapitel 4.4.2 wird ein Versuch diskutiert, die Einflüsse mit einem klassischen Schwingungsansatz im Rahmen einer Car-Parrinello-Simulation zu beschreiben. Als Vorgriff soll schon an dieser Stelle die Problematik angesprochen werden, die Ergebnisse eines klassischen Modells mit denen eines quantenmechanischen Modells zusammenzubringen. In letzterem sind die Nullpunktsschwingungseffekte entscheidend und die Temperatureffekte untergeordnet. In den klassischen Modellen gibt es keine Nullpunktschwingungseffekte und die Temperaturabhängigkeit ist sehr groß.

Bedingt durch die gesteigerte Genauigkeit der Abstandsmessungen in Wasserstoffbrücken durch die Methoden der NMR, dürfen die Effekte von Schwingungen nicht mehr vernachlässigt werden, wenn die Ergebnisse verschiedener Methoden miteinander verglichen werden. Von der Seite der theoretischen Chemie ist daher notwendig, solche Effekte genau zu untersuchen, wenn es um die genaue Vorhersage von Eigenschaften, in diesem Fall der Dipol-Dipol-Kopplung, geht.

Es soll an dieser Stelle noch angemerkt werden, dass die hohe Qualität der berechneten Stukturen von Pyrimidinon- und Pyrimidinol-Form durch die quantenchemische Berechnung von ^{1}H- und ^{15}N-chemischen Verschiebungen bestätigt wurde, welche in bemerkenswert guter Übereinstimmung mit den experimentellen Werten sind. Für die detaillierten Ergebnisse wird auf [Schulz-Dobrick 04] verwiesen.

4.4 ^{1}H-^{15}N-Abstandsbestimmungen im Cytosin-Monohydrat

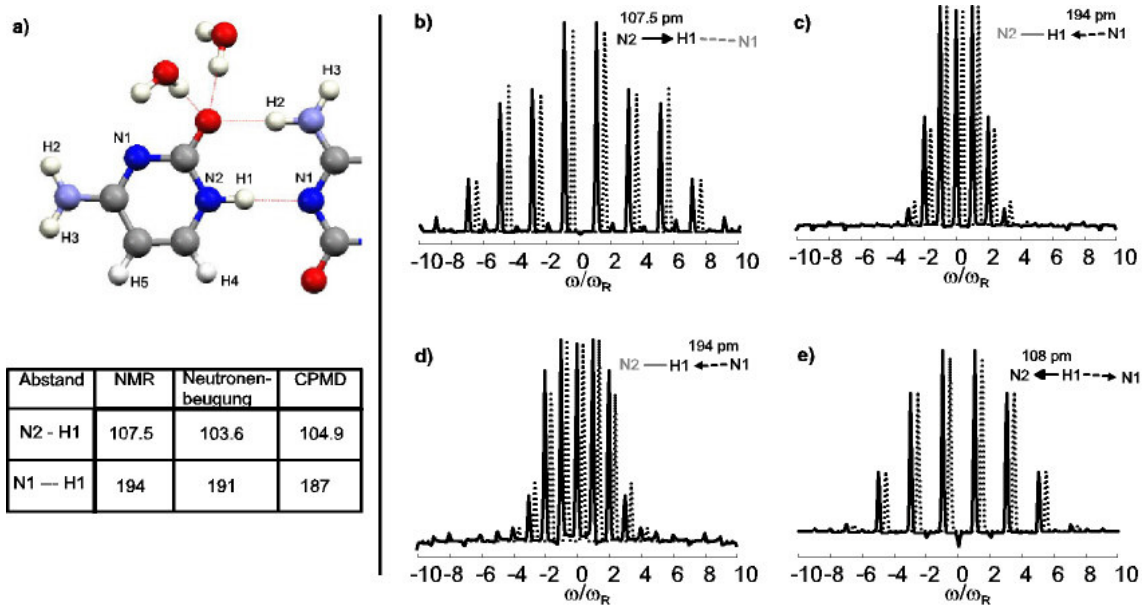
4.4.1 CPMD-Rechnungen

Quantenchemische Rechnungen am Cytosin-Monohydrat wurden mit dem mit dem CPMD-Programmpaket (Car-Parrinello Molecular Dynamics) [CPMD 90] durchgeführt, welches auf der Dichtefunktionaltheorie [Hohenberg 64, Kohn 65] basiert. Für das Austausch-Korrelationsfunktional wird BLYP [Becke 88, Lee 88] verwendet und die kernnahen Elektronen durch Pseudopotentiale des Goedecker-Typs [Goedecker 96] beschrieben. Um eine gute Beschreibung des kristallinen Cytosin-Monohydrats zu gewährleisten werden periodische Randbedingungen verwendet, was ebene Wellen als Basisfunktionen nahe legt. Die Basissatzgröße ist durch die Obergrenze für die kinetische Energie der Basisfunktionen bestimmt. Für Cytosin-Monohydrat wurde eine Obergrenze von 80 Ry verwendet.
Eine Gleichgewichtsstruktur wurde für Cytosin-Monohydrat durch eine Geometrieoptimierung erhalten.
Weiterhin können dynamische Simulationen mit dem Programm durchgeführt werden. Die Dynamik wird im Rahmen der Born-Oppenheim-Näherung beschrieben, welche quantenmechanische Nullpunktsschwingungseffekte nicht berücksichtigt. Die Temperatur des Systems ist durch die mittlere kinetische Energie der Kerne definiert.
Das CPMD-Programmpaket bietet die Möglichkeit, elektrische Feldgradienten und somit Quadrupolkopplungen zu berechnen [Schmidt 04]. Davon wird in Kapitel 7 Gebrauch gemacht.

4.4.2 NMR-Strukturbestimmung und Vergleich mit Daten der Rechnungen und Neutronenbeugung

Das synthetisierte $^{15}N_2$-Cytosin-Monohydrat enthält eine Wasserstoffbrücke N2–H1···N1, in der alle Kerne NMR-aktiv ist. Sie wurde mit den gleichen Methoden untersucht, die schon bei den Ureido-Pyrimidinonen ausführlich beschrieben wurden. In Abbildung 4.16a ist ein Ausschnitt aus der Kristallstruktur mit Nummerierung der Kerne gezeigt. Die kovalente N2–H1-Bindung wurde zu 107.5 pm bestimmt, beispielsweise durch ein HDOR-NN(H)-Experiment (b). Dabei wurde die heteronukleare Störkopplung zu H4 mit berücksichtigt, dessen Position durch die Neutronenstruktur und die quantenchemischen Rechnungen bekannt ist. In c und d sind REREDOR-NN(H)-Experimente mit Wiedereinkopplungsblöcken von 16 beziehungsweise 20 gezeigt, die beide einen Wert für den langen H1···N1-Abstand als 194 pm messen. Bei den Simulationen wurde jeweils das Proton H2 (Abstand N1–H2 etwa 250 pm) als Störspin mitberücksichtigt. Ein H1-detektiertes HDOR-Experiment ist in e dargestellt. Unter Berücksichtigung der 194 pm für den langen Abstand liefert die Simulation einen

kurzen Abstand von 108 pm. In Abbildung 4.16a sind die Ergebnisse für die beiden Abstände, ermittelt durch die Methoden der NMR, der Neutronenbeugung [Weber 80] und der quantenchemischen CPMD-Rechnung, zusammengefasst. Die Fehlergrenzen der NMR-Ergebnisse sind etwa ±1 pm und ±5 pm für den kurzen und langen Abstand. Die Fehler der Neutronenbeugung werden mit ±0.1 pm beziehungsweise ±0.2 pm angegeben. Für die CPMD-Rechnung ist die Genauigkeit schwieriger zu beurteilen, sie ist jedoch vermutlich geringer als die der quantenchemischen Rechnungen aus Kapitel 4.3.1, da die Elektronendichte durch ebene Wellen schlechter beschrieben wird als durch Atomorbitale. Für die kurzen Abstände werden Fehlergrenzen von ±2 pm und für die langen von ±8 pm angenommen.



Abstand	NMR	Neutronen-beugung	CPMD
N2 - H1	107.5	103.6	104.9
N1 — H1	194	191	187

Abbildung 4.16: a) Ausschnitt aus der Kristallstruktur von Cytosin-Monohydrat mit der intermolekularen N2–H1···N1-Wasserstoffbrücke. Dazu die Übersicht der Bindungsabstände gemessen durch NMR (b-e), Neutronenbeugung [Weber 80] und quantenchemischen CPMD-Rechnungen. Rechts: Experimentelle (durchgezogene Linie) und simulierte (gepunktete Linie) Seitenbandenmuster der N2–H1···N1-Brücke. b) HDOR-NN(H) von N2 mit Wiedereinkopplungsblöcken von jeweils 8 Rotorperioden, c) REREDOR-NN(H) von N1, 16 Rotorperioden, d) REREDOR-NN(H) von N1, 20 Rotorperioden und e) HDOR-HH(N) von H1, 6 Rotorperioden.

Molekülschwingungen beeinflussen die verschiedenen Methoden in unterschiedlicher Weise und sind der Grund, warum auch theoretisch unterschiedliche Abstände für verschiedene Messmethoden erwartet werden [Ishii 97]. Aus den quantenchemischen Rechnungen wird die Gleichgewichtsgeometrie (mit den Gleichgewichtsabständen r_e) erhalten, dass heißt die Geometrie, bei der die Gesamtenergie minimal ist. Doch selbst bei einer Temperatur von 0 K hat das Molekül kinetische Energie und die Kerne schwingen, wodurch Schwingungsmittelungen bei den Abständen berücksichtigt werden müssen.

Der einfachste Ansatz sind die „schwingungsgemittelten Abstände“ r_g, die den zeitlichen Mittelwert über den instantanen Abstand repräsentieren. Diese Abstände sind größer als der Gleichgewichtsabstand, da die Potentialhyperfläche asymmetrisch ist und die Schwingung anharmonische Anteile aufweist. Schwingungsgemittelte Abstände werden beispielsweise durch Elektronenstreuung in Lösung oder Mikrowellenspektroskopie erhalten.
„Schwingungsgemittelte Geometrien“ werden durch Röntgen- und Neutronenbeugung an Einkristallen gemessen. Dabei wird die Position jedes einzelnen Atoms zeitlich gemittelt und die Abstände r_z zwischen diesen gemittelten Positionen bestimmt. Torsionsschwingungen führen zu einer Verringerung der Abstände r_z gegenüber den „schwingungsgemittelten Abständen“ r_g, allerdings werden immer noch größere Abstände als r_e erwartet.
Die „NMR-Abstände“ r_{NMR}, die aus schwingungsgemittelten dipolaren Kopplungen erhalten werden, sind die längsten Abstände, da sie durch Torsionsschwingungen „länger“ werden (siehe Diskussion in Kapitel 4.3.4). Zusammengefasst gilt die Relation

$$r_e < r_z < r_g < r_{NMR}. \tag{4.15}$$

Für den kovalenten N2–H1-Abstand im Cytosin-Monohydrat ist r_{NMR} mit 107.5 pm länger als r_z mit 103.6 pm und r_e mit 104.9 pm, was mit den Erwartungen übereinstimmt. r_e sollte jedoch kleiner sein als r_z. Wie bei den Ureido-Pyrimidinonen schon diskutiert, sollte die Differenz zwischen r_e und r_{NMR} in der Größenordnung von 3 pm liegen. Eine Einordnung von r_z gegenüber r_{NMR} ist schwierig, zudem hinzukommt, dass die Neutronendaten nur mit deuteriertem Verbindungen aufgenommen werden können.
Bei den langen Abständen sind die Werte in der erwarteten Reihenfolge, jedoch sind die Fehlergrenzen zu hoch, um quantitative Aussagen zu treffen. Es gibt bislang noch keine Untersuchungen über Schwingungsmittelungen der langen Abstände in Wasserstoffbrücken. Auch muss erwartet werden, dass diese stark vom untersuchten System abhängen, während bei den kovalenten Abständen keine großen Unterschiede für verschiedene Systeme gefunden wurden. Um einen Eindruck zu bekommen, was bei den langen Abständen passieren könnte, wurde mit Hilfe des CPMD-Programms eine klassische Dynamik-Simulation durchgeführt. Dabei wurde bei einer Temperatur von etwa 300 K über eine Dauer von 2 ps mit einer Schrittweite von 0.1 fs eine Trajektorie der Kernkoordinaten aufgenommen. Anschließend wurde mit diesen Daten die gemittelte Dipol-Dipol-Kopplung nach Gl. (4.14) und daraus r_{NMR} berechnet und mit dem Gleichgewichtsabstand r_e verglichen. Diese Simulationen berücksichtigen keine Nullpunktsschwingungseffekte, welche jedoch den entscheidenden Beitrag liefern, und sollten nicht quantitativ interpretiert werden. Interessant ist, dass trotzdem die gleichen Tendenzen für den Einfluss der Mittelungen auf die kovalente Bindungslänge wie in [Case 99] beobachtet werden: Die $\left\langle r_{ij}^3 \right\rangle_t$-Mittelung hat einen viel geringeren Effekt als die Orien-

tierungsmittelung. Wird der lange Abstand betrachtet, so werden für die Schwingung entlang der Bindungsachse wesentlich höhere Auslenkungen beobachtet und die $\left\langle r_{ij}^{3} \right\rangle_{t}$ -Mittelung fällt stärker ins Gewicht. Nun kommt es auf den Grad der Asymmetrie des Potentials an, ob dadurch r_{NMR} länger oder kürzer wird. In den CPMD-Rechnungen wurde beobachtet, dass sich die schwingungsgemittelte Dipol-Dipol-Kopplung gegenüber der Gleichgewichts-Dipol-Dipol-Kopplung bei der langen Bindung prozentual weniger verringert als bei der kurzen Bindung. Für eine vollständige Beschreibung der Dipol-Dipol-Kopplung ist es nötig, alle Schwingungen im Festkörper zu betrachten, die einen Einfluss auf die Orientierung des Dipol-Dipol-Vektors haben. Dabei spielen nicht nur die Schwingungen der Wasserstoffe selbst, sondern auch diejenigen der Gerüstatome eine Rolle. Beide sind in Abbildung 4.17 in Form thermischer Ellipsoide, wie sie bei Beugungsmethoden verwendet werden, angedeutet.

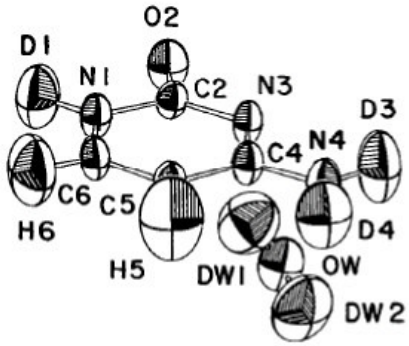


Abbildung 4.17: Deuteriertes Cytosin-Monohydrat mit thermischen Ellipsoiden aus [Weber 80].

Auch wenn klassische Dynamiksimulationen in diesem Fall ungeeignet sind, um die Eigenschaft der schwingungsgemittelten Dipol-Dipol-Kopplung quantitativ zu berechnen, so zeigen sie dennoch den Bedarf an entsprechenden Untersuchungen von Seiten der theoretischen Chemie, da sowohl die Abstandsmessungen in supramolekularen, polykristallinen Festkörpern als auch die Rechnungen selbst eine Genauigkeit erreicht haben, bei der die entsprechenden Effekte relevant sind. Insbesondere wird interessant sein zu sehen, wie die langen Abstände beider Methoden miteinander in Verbindung gebracht werden können, welchen Einfluss der Austausch von Protonen mit Deuteronen hat und wie die Daten aus der Neutronenbeugung mit denen der NMR zu vergleichen sind.

5 ^{1}H-^{1}H-Abstandsbestimmungen

In komplexen, wasserstoffverbrückten Systemen gibt es neben den heteronuklearen Abstandsmessungen auch die Möglichkeit, homonukleare Abstände, insbesondere Proton-Proton-Abstände, zu messen. Dabei kann die Back-to-Back-Sequenz genutzt werden, um die homonukleare Dipol-Dipol-Kopplung über Doppelquantenzustände zu messen [Schnell 01]. An den Ureido-Pyrimidinonen sind in einer früheren Arbeit schon ^{1}H-^{1}H-Abstände in der vierfachen Wasserstoffbrücke gemessen worden [Schnell 02]. Nachdem nun die Abstände aus den quantenchemischen Rechnungen verfügbar waren und mit den experimentellen Abständen verglichen wurden, konnten starke Abweichungen von bis zu 50 pm festgestellt werden. Da die Ergebnisse der Rechnungen eine Genauigkeit von etwa ±7 pm haben, sind die experimentellen Daten sehr unzufriedenstellend. Die Gründe dafür wurden im Rahmen dieser Diplomarbeit untersucht. In dieser Untersuchung konnte eine generelle Problematik bei der Messung aufgezeigt werden, und es konnte nachvollzogen werden, wie die ursprünglichen Messfehler zustande kamen. Weiterhin konnten die Abstände in der Pyrimidinon-Form in guter Übereinstimmung mit den Rechnungen gemessen werden. Die Abstände in der Pyrimidinol-Form konnten jedoch nach wie vor nicht exakt gemessen werden.

5.1 Methodische Grundlagen

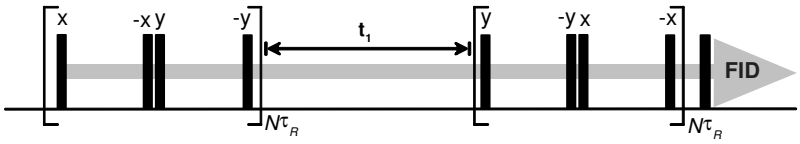


Abbildung 5.1: Pulssequenz zur Generierung von Seitenbanden über DQ-Zustände.

In Kapitel 3.4 wurde die Back-to-Back-Pulssequenz als Methode zur Wiedereinkopplung der homonuklearen Dipol-Dipol-Kopplung einführt. Diese Sequenz kann auch genutzt werden, um Seitenbandenmuster zu erzeugen beziehungsweise um Korrelationsspektren zwischen Protonen und Doppelquantenzuständen aufzunehmen. In beiden Fällen wird zwischen die beiden Wiedereinkopplungsblöcke (jeweils mit der Länge $N\tau_R$) ein t_1-Intervall eingefügt. Dieses wird bei der Generierung von Seitenbanden von 0 bis τ_R schrittweise erhöht. Im Korrelationsexperiment wird t_1 in vollen Rotorperioden erhöht, wodurch sich der Doppelquantenzustand nur unter isotroper chemischer Verschiebung entwickelt. Werden beide Experimente miteinander kombiniert, d.h. t_1 wird über viele Rotorperioden hinweg in etwa 20 Schritten pro Rotorperiode inkrementiert, so können Seitenbandenmuster, die gemäß ihrer chemischen Verschiebung aufgelöst sind, Doppelquantenzuständen erhalten werden. Dieses Experiment

hat bei Verbindungen wie den Ureido-Pyrimidinonen den Vorteil, dass die Einflüsse von den zahlreichen Protonen der aliphatischen Seitenketten separiert werden können.
Die Seitenbandenmuster können simuliert werden nach

$$S_{DQ}^{ij}(t_1) \sim \left\langle \sin N\bar{\Phi}_0^{ij} \cdot \sin N\bar{\Phi}_{t_1}^{ij} \right\rangle_{\beta,\gamma} \tag{5.1}$$

mit

$$\bar{\Phi}_t^{ij} = \frac{D_{ij}}{\omega_R} 3\sqrt{2} \sin 2\beta \sin(\omega_R t + \gamma). \tag{5.2}$$

Die Auswertung erfolgt dabei analog den heteronuklearen Experimenten. Durch Vergleich mit numerischen Rechnungen wurde für endliche Pulslängen bei 29762 Hz und 2.5 µs π/2-Pulsen eine Verminderung der effektiv wiedereingekoppelten Dipol-Dipol-Kopplung auf etwa 96.5 % des eigentlichen Werts gefunden. Die im Folgenden gezeigten Messwerte sind entsprechend korrigiert.

5.2 Messungen an den Ureido-Pyrimidinonen

Die Strukturformeln der Pyrimidinon- und Pyrimidinol-Form finden sich in Abbildung 4.1. An beiden Verbindungen wurde das DQ-BaBa-Experiment durchgeführt, bei einer Rotationsfrequenz von 29762 Hz und einer π/2-Pulslänge von 2.5 µs. Mit 15 t_1-Inkrementen pro Rotorperiode wurden jeweils 8 Rotorperioden aufgenommen. Die Wiedereinkopplungsblöcke waren jeweils 4 Rotorperioden lang. Im Vergleich zum ursprünglichen Experiment wurde mit Rotortriggern [Schmidt-Rohr 94] gearbeitet, um die Synchronisation zwischen Rotorstellung und Pulssequenz am Ende des t_1-Intervalls zu unterstützen.
Die Vierfachbrücke der Pyrimidinon-Form hat das Muster H3-H2-H2-H3. Die chemische Verschiebungsdifferenz der beiden Doppelquantenzustände H3-H2 und H2-H2 ist nicht groß genug um die Peaks aufzulösen. Das bedeutet, dass die Detektion von H3 die Kopplung zu H2 liefert, die Detektion von H2 jedoch die Kopplungen zu H3 und dem Nachbar-H2 gleichzeitig liefern. Das Muster von H3 ist in Abbildung 5.2a dargestellt. Der beste Fit liefert einen H3–H2-Abstand von 224 pm, was gut mit den Ergebnissen der quantenchemischen Rechnungen (219-224 pm) übereinstimmt. (Die Details der Rechnungen sind schon in Kapitel 4.3 genannt worden, und die Ergebnisse enthält Tabelle 5.1.) Es ist weiterhin eine Simulation angegeben, welche das Muster ohne Berücksichtigung der äußeren Seitenbanden (5. Ordnung) anfittet. Diese würde mit 255 pm einen zu großen Abstand ergeben. Es konnte gezeigt

werden, dass die Sensitivität der äußeren Seitenbanden auf Rotationsfluktuationen (siehe Kapitel 4.2.4) sehr hoch ist. In einem Vergleichsexperiment ohne Rotortrigger waren diese praktisch nicht mehr zu erkennen. Wie gezeigt, kann das Muster jedoch auch ohne die äußeren Seitenbanden gefittet werden, jedoch werden um 30 pm zu große Werte erhalten. Auf diese Weise sind die falschen Abstände in [Schnell 02] zustande gekommen. In b sind die Muster von Proton H2 gezeigt. Wird hier für den H2–H3-Abstand der Wert aus Experiment a eingesetzt, so kann ein H2–H2-Abstand von 257 pm gefittet werden, was gut mit dem berechneten Abstand von 248–259 pm übereinstimmt.

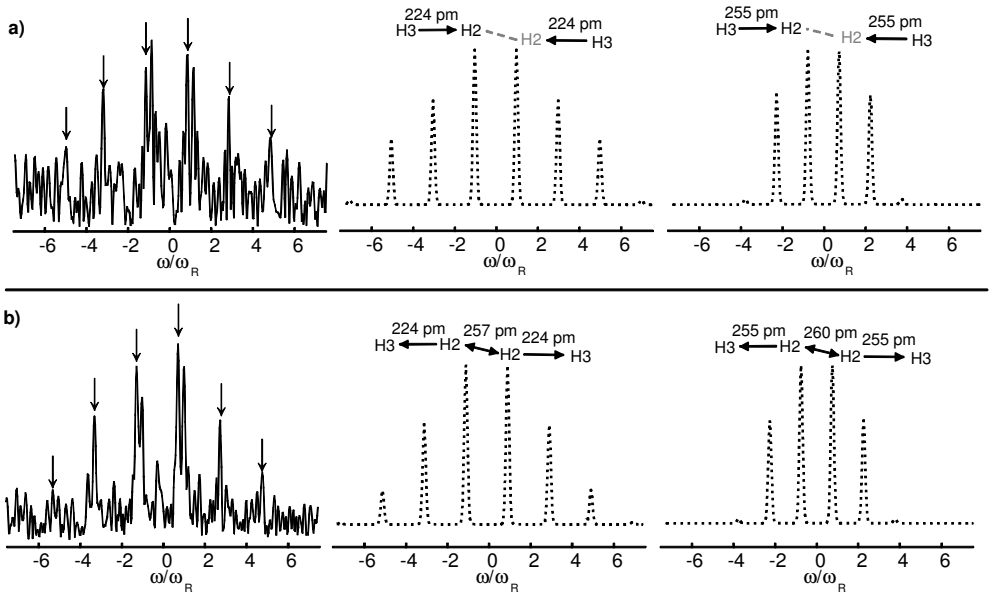


Abbildung 5.2: Ergebnisse der Pyrimidinon-Form. a) Detektion von H3, b) Detektion von H2. Links ist jeweils das gemessene Spektrum. Die Pfeile indizieren die relevanten Seitenbanden. In der Mitte ist der „richtige“ Fit mit Ergebnissen dargestellt. Rechts der „falsche“ Fit ohne Beachtung der Seitenbanden 5. Ordnung.

Die Genauigkeit der „neuen“ Abstände ist jedoch nicht sehr hoch, da das Signal-zu-Rausch-Verhältnis sehr schlecht ist. Sie kann auf ±10 pm abgeschätzt werden.

Die Ergebnisse der Messungen an der Pyrimidinol-Form sind in Abbildung 5.3 gezeigt. In diesem Fall sind sehr hohe Seitenbanden 1. Ordnung zu sehen, die Seitenbanden 3. Ordnung sind schon kaum zu erkennen. Die Simulationen zeigen, wie die Seitenbandenmuster eigentlich aussehen sollten, wenn die Abstände aus den quantenchemischen Rechnungen zu Grunde gelegt werden. Es ist hier offensichtlich, dass ein Problem bei der Verbindung vorliegt, da ein solches Muster auch nicht mit Rotationsfluktuationen erklärt werden kann. Die Überhöhung der mittleren Seitenbanden bei der Pyrimidinol-Form, die schon bei den heteronuklearen Experimenten gesehen wurde (Kapitel 4.3.3), ist bei den DQ-BaBa-Experimenten noch stärker ausgeprägt. Würde man die gemessenen Seitenbandenmuster anfitten, so würden Abstän-

de von 280 pm und 295 pm erhalten, was deutlich zu hoch gegenüber den berechneten 247 pm und 235 pm ist. Die genaue physikalische Ursache für dieses Phänomen ist noch nicht geklärt. Es muss daher festgehalten werden, dass Proton-Proton-Abstände an der Pyrimidinol-Form mit dieser Methode nicht messbar sind. In Tabelle 5.1 sind die experimentellen Abstände im Vergleich mit den einzelnen quantenchemischen Methoden zusammengefasst.

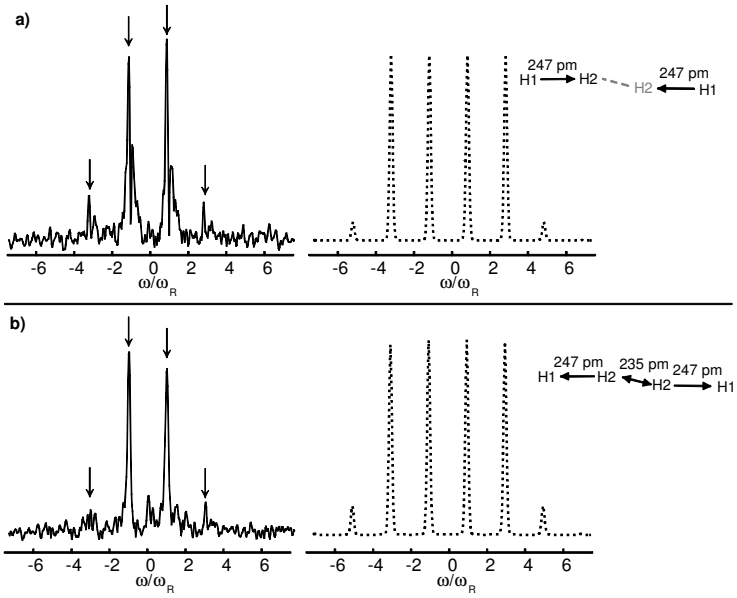


Abbildung 5.3: Ergebnisse der Pyrimidinol-Form. a) Detektion von H1, b) Detektion von H2. Links ist jeweils das gemessene Spektrum. Die Pfeile indizieren die relevanten Seitenbanden. Rechts ist jeweils das berechnete Seitenbandenmuster gezeigt, welches nach der berechneten Geometrie erwartet werden würde.

Prinzipiell lässt sich jedoch festhalten, dass Proton-Proton-Abstände schwerer zu messen sind als beispielsweise Proton-Stickstoff-Abstände. Das Hauptproblem sind die homonuklearen Störkopplungen. Ein Proton kann Doppelquantenkohärenzen mit verschiedenen Partnern eingehen und gleichzeitig kann sich das gesamte Spinsystem auch in höhere Kohärenzen entwickeln. Um von den vielen Doppelquantenkohärenzen die richtige zu detektieren, muss das Experiment in der Regel mit chemischer Verschiebungsauflösung durchgeführt werden, was jedoch sehr häufig Spektren mit geringem Signal-zu-Rausch-Verhältnis nach sich zieht. Ein weiteres Problem ist die geringe Flexibilität mit der Anzahl der Wiedereinkopplungsperioden. Im Falle der Ureido-Pyrimidinone wäre ein breiteres Seitenbandenmuster wünschenswert mit Blöcken von 6 oder 8 Rotorperioden Länge. Jedoch ging das Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei diesen Experimenten so stark herunter, dass keine Modulation mehr zu erkennen war.

Tabelle 5.1: Experimentelle und berechnete ^{1}H-^{1}H-Abstände in pm.

Abstand	NMR	Volloptimierung		optimierte Röntgen-struktur		Daten aus
	r_{eff}	DFT	MP2	DFT	MP2	[Schnell 02]
Pyrimidinon						
H3-H2	224 (±10)	224	221	219	219	260
H2-H2	255 (±10)	259	254	248	248	275
Pyrimidinol						
H1-H2	nicht	248	246	---	---	280
H2-H2	messbar	238	233	---	---	290

Im folgenden Kapitel wird ein Konzept verfolgt, welches die Probleme der Protonen zu umgehen sucht, indem ein Teil der Protonen durch Deuteronen ausgetauscht wird. Abstandsmessungen zwischen Proton und Deuteron sind dann auf heteronukleare Weise möglich mit der hier neuentwickelten Deuteronen-REREDOR-Methode.

6 Abstandsmessungen und chemische Verschiebungskorrelation von Deuteronen

In supramolekularen Verbindungen sind häufig die Protonen in Wasserstoffbrücken die interessantesten Kerne für die Untersuchung mit Methoden der Festkörper-NMR-Spektroskopie. Bei größeren und komplexeren Systemen steigt die Wahrscheinlichkeit, dass bestimmte Messungen durch eine Überlagerung der Peaks unterschiedlicher Protonen oder durch Störkopplungen erschwert werden. Insbesondere die aromatischen Protonen haben häufig eine ähnliche chemische Verschiebung wie Amino- oder Hydroxyl-Protonen in mäßig starken bis schwachen Wasserstoffbrücken. Eine Möglichkeit, solche Probleme zu umgehen, ist die selektive Deuterierung aller störenden Wasserstoffpositionen und die Nutzung der verbliebenen Protonen. Da nun häufig gerade die Protonen in den Wasserstoffbrücken die interessierenden sind, so müssen die kohlenstoffgebundenen Wasserstoffe gegen Deuterium ausgetauscht werden [Reif 01], was synthetisch sehr aufwendig und teuer ist.
In dieser Arbeit wird nun untersucht, mit welchen Möglichkeiten die Deuteronen direkt verwendet werden können, da beispielsweise ein ^{2}H/^{1}H-Austausch in Wasserstoffbrücken häufig durch einfache Umkristallisation in deuterierten, protischen Lösungsmitteln möglich ist. Es wird im Folgenden gezeigt, mit welchen Pulssequenzen die störende ^{2}H-Quadrupolkopplung in den Griff zu bekommen ist und dadurch die gleichen Experimente möglich werden, wie sie für Spin-1/2-Kerne schon gezeigt wurden. Dabei wird zuerst ein ^{2}H-analoges REREDOR vorgestellt, mit dem die Dipol-Dipol-Kopplung und damit Abstände gemessen werden können. Als zweites wird ein ^{2}H-analoges HSQC gezeigt, welches die chemischen Verschiebungen der Deuteronen direkt mit denen von Stickstoff und Protonen korreliert.

6.1 Deuteronen-REREDOR

In diesem Abschnitt wird das das Deuteronen-REREDOR, auch als REREDOR-DD(X) bezeichnet, vorgestellt, mit welchem die heteronukleare Dipol-Dipol-Kopplung zwischen Deuteron und einem Spin-1/2-Heterokern gemessen werden kann. Es basiert auf dem in Kapitel 4.2 beschriebenen REREDOR-Experiment, wobei einige Änderungen vorgenommen wurden, um den störenden Einflüssen der Quadrupolkopplung zu begegnen.
Für Abstandsmessungen zwischen Deuteron und ^{13}C und ^{15}N wurde in der Literatur das REAPDOR Experiment (Rotational Echo, Adiabatic Passage Double-Resonance, [Hughes 02]) und einem Deuterium-REDOR [Sack 00] verwendet. Beide arbeiten mit der Detektion der Spin-1/2-Kerne und der Messung von Aufbaukurven. Die Messung von Aufbaukurven

unterliegt den typischen Problemen (vgl. Kapitel 3.3). In diesem Fall sind sie zusätzlich stark abhängig von der Quadrupolkopplung (Stärke, Asymmetrie und Orientierung müssen bekannt sein) und der Pulsleistung, und die Genauigkeit der Messungen ist daher nicht sehr hoch.
Die Methode in dieser Arbeit nutzt die Deuteronen als aktive Spins, um ihre schnelle Spin-Gitter-Relaxation auszunutzen und die Experimentdauer niedrig zu halten. Weiterhin sollen Seitenbanden generiert werden, da sich diese Methode für die ^{1}H–^{15}N-Messungen (Kapitel 4) bewährt hat. Es wird weiterhin der Anspruch erhoben, dass Abstandsmessungen mit hoher Genauigkeit möglich sein sollen, ohne dabei die Quadrupolkopplung exakt kennen zu müssen, da deren Messung in mehrfach deuterierten Verbindungen schwierig und auch fehlerbehaftet ist.

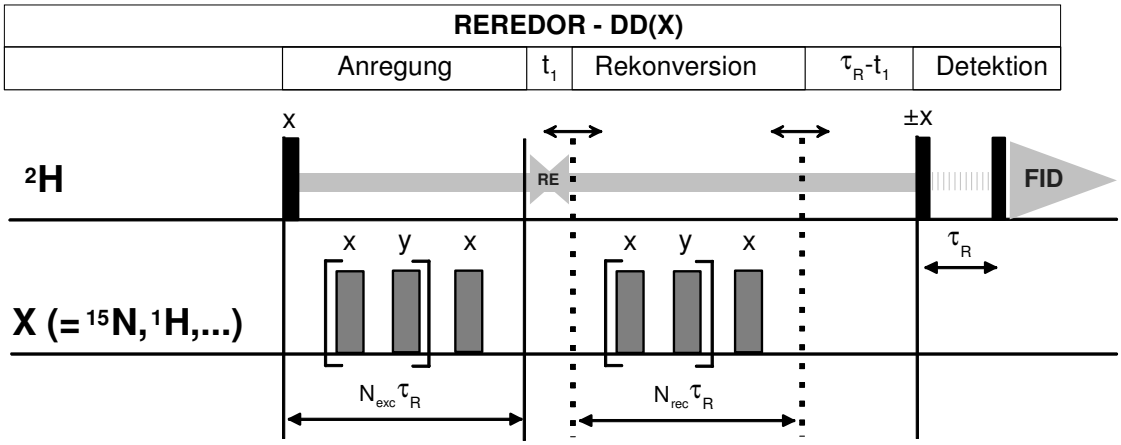


Abbildung 6.1: Die REREDOR-DD(X)-Pulssequenz.

Abbildung 6.1 zeigt die Pulssequenz. Die Anregung der transversalen Magnetisierung findet auf den Deuteronen durch einen einfachen π/2-Puls statt. Es folgen zwei Wiedereinkopplungsblöcke, Anregung und Rekonversion genannt, die gegeneinander um die Rotorphase $\omega_R t_1$ verschoben werden. Anschließend wird die Magnetisierung durch einen weiteren π/2-Puls in einen z-Filter gespeichert und detektiert. Für die Länge des z-Filters wurde eine Rotorperiode gewählt. Um Interferenzen der Modulation in t_1 mit der Quadrupolkopplung zu verhindern, wurden die drei Deuteron-π/2-Pulse alle auf die gleiche Rotorphase gesetzt, d.h. sie folgen im Abstand von einer ganzzahligen Anzahl Rotorperioden. Im Vergleich zum normalen REREDOR wird daher beim Deuteronen-REREDOR das zweite t_1-Intervall durch eine Zeit $\tau_R - t_1$ ersetzt. Die zentralen π-Pulse in den Wiedereinkopplungsblöcken werden beim normalen REREDOR auf dem detektierten Kern eingestrahlt, um die isotrope chemische Verschiebung zu refokussieren. Da jedoch die Rotorphase dieser zentralen π-Pulse bei Anregung und Rekonversion verschieden ist, würden diese Pulse mit der Quadrupolkopplung interferieren. Weiterhin ist eine Inversion von Kernen mit Quadrupolkopplung kritisch, da die für eine vollständige Inversion nötige Anregungsbandbreite und damit Pulsleistung bei gewöhnlichen Probenköpfen nicht erreicht wird. Aus diesen Gründen werden die zentralen π-Pulse auch auf dem X-Kern eingestrahlt, wodurch jedoch die isotrope chemische Verschie-

bung nicht refokussiert wird. Deshalb werden die Deuteron-Pulse auf der Resonanz-Frequenz des zu detektierenden Kerns eingestrahlt. Hat eine Substanz mehrere Kerne, von denen ein Seitenbandenmuster gemessen werden muss, so können die Muster von den nicht-resonanten Kernen unter Signalverlust leiden und das Experiment sollte am günstigsten für jeden Kern separat mit der entsprechenden Einstrahlfrequenz durchgeführt werden.
Die Simulation der Experimente geschieht prinzipiell mit den gleichen Formeln, die für das normale REREDOR hergeleitet wurden (Gl. (4.4) und (4.5)). Der einzige Unterschied ist die Modifizierung des zweiten t_1-Intervalls, wodurch die Integrationsgrenzen der akquirierten Phase geändert werden müssen. Für ein IS_n-Spinsystem lautet die Gleichung des Deuteronen-REREDOR:

$$S(t_1) \propto \left\langle \prod_i^n \cos\left(N_{exc}\bar{\Phi}_0^{(i)} - \Phi^{(i)}(0;t_1) - N_{rec}\bar{\Phi}_{t_1}^{(i)} + \Phi^{(i)}(t_1;\tau_R) \right) \right\rangle_{\beta,\gamma} \tag{6.1}$$

Mit den gleichen akquirierten Phasen wie in Gl. (4.2) und (4.3):

$$\begin{aligned} \Phi(t';t'') &= \int_{t'}^{t''} D_{ij}\left[\tfrac{1}{2}\sin^2\beta\cos(2\omega_R t + 2\gamma) - \tfrac{1}{\sqrt{2}}\sin 2\beta\cos(\omega_R t + \gamma)\right]dt \\ \bar{\Phi}_{t_1} &= \Phi(0;t_1+\tau_R) - \Phi(0;t_1) = \frac{D_{ij}}{\omega_R}2\sqrt{2}\sin 2\beta\sin(\gamma + \omega_R t_1) \end{aligned} \tag{6.2}$$

Diese Formeln wurden für δ-Pulse hergeleitet, und es ist wieder zu prüfen, welche Einflüsse die endlichen Pulslängen haben. Es muss in diesem Fall zwischen den π-Pulsen auf den passiven X-Kernen und den π/2-Pulsen auf den Deuteronen unterschieden werden. Für die π-Pulse gelten die gleichen Regeln, die in Kapitel 4.2.2 für die Experimente mit normalem REDOR ausführlich diskutiert wurden. Die effektiv wiedereingekoppelte Dipol-Dipol-Kopplung kann auch beim Deuteronen-REREDOR durch den Faktor κ

$$\kappa = \frac{\cos((\pi/2)\phi)}{1-\phi^2} \tag{6.3}$$

beschrieben werden. In ϕ geht dabei die Pulslänge der π-Pulse auf dem X-Kanal ein. Dieser experimentelle Einfluss ist gut kontrollierbar und wird bei der Auswertung mit berücksichtigt. Der zweite Einfluss stammt von den homonuklearen Störkopplungen, die sich für endliche Pulse nicht vollständig ausmitteln. Diese sind bei REREDOR-DD(N)-Experimenten zu vernachlässigen, treten bei den REREDOR-DD(H)-Experimenten aber verstärkt auf, da die Proton-Proton-Kopplung etwa 6.5mal stärker ist als die Deuteron-Proton-Kopplung. Bei den

DD(H)-Messungen sollte deswegen auf eine möglichst hohe Pulsleistung geachtet werden. Für die DD(H)-Messungen in dieser Arbeit wurde eine Leistung entsprechend einem ^{1}H-π/2-Puls von 2 µs verwendet, die ausreichend hoch war.
Während beim normalen REREDOR die Länge der Anregungs-π/2-Pulse auf den detektierten Spins relativ unkritisch ist, so hat sie beim Deuteronen-REREDOR einen Einfluss auf die Seitenbandenmuster. Der Grund dafür ist die Interferenz der Pulse mit der Quadrupolkopplung. Die Pulssequenz ist so aufgebaut, dass die Quadrupolkopplung für δ-Pulse keinen Einfluss auf die Seitenbandenmuster hat und diese nur von der heteronuklearen Dipol-Dipol-Kopplung stammen. Dafür wurde die Anzahl der Pulse auf der ^{2}H-Seite minimiert bis auf die π/2-Pulse zu Beginn und am Ende der Pulssequenz. In Abbildung 6.2 sind numerisch simulierte Seitenbandenmuster mit unterschiedlichen ^{2}H-π/2-Pulslängen gezeigt. Die gewählten Parameter orientieren sich an den DD(N)-Messungen am Cytosin-Monohydrat. Die Quadrupolkopplung von 120 kHz ist ein typischer Wert für Wasserstoffbrücken.

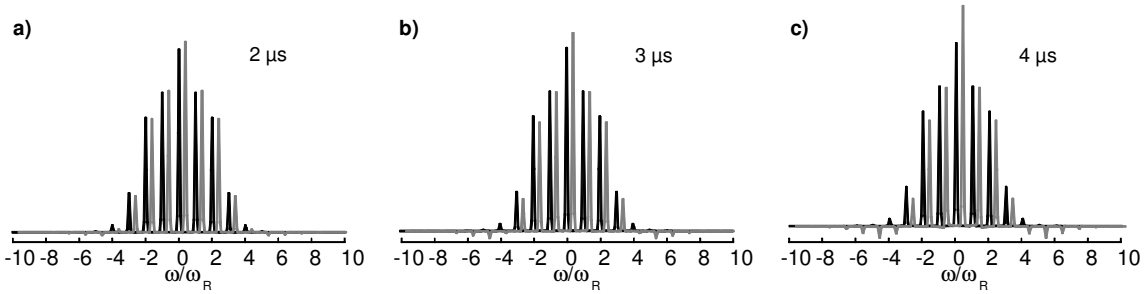


Abbildung 6.2: Vergleich zwischen berechneten Seitenbandenmuster mit δ-Pulsen (jeweils in schwarz) und mit endlichen ^{2}H-π/2-Pulsen (grau) von a) 2 µs, b) 3 µs und c) 4 µs. Die Muster sind berechnet mit Wiedereinkopplungsblöcken von je 16 Rotorperioden bei einer MAS-Frequenz von 20 kHz mit $D_{is}/2\pi$=1500 Hz und $\delta_Q/2\pi$=120 kHz.

Es fällt auf, dass die Zentralbande für längere Pulse stark in die Höhe geht. Da diese jedoch bei der Auswertung nicht mitberücksichtigt wird, ist eher auf die Unterschiede in den äußeren Seitenbanden zu achten. Die Differenzen sind auf den ersten Blick nicht besonders groß, doch sind sie für den Anspruch an Genauigkeit, der in dieser Arbeit gezeigt wird, entscheidend. Am einfachsten lässt sich der Effekt der Interferenz zwischen endlichen Pulslängen und der Quadrupolkopplung numerisch einbeziehen. Die in dieser Arbeit gemessenen ^{2}H-Abstände wurden alle durch numerische Simulationen mit endlichen ^{2}H-Pulslängen bestimmt. Da die numerischen Rechnungen recht langwierig sind und die Unterschiede zur δ-Puls-Näherung nicht groß sind, kann in der Praxis ein Zweistufen-Prozess angewendet werden, bei dem die experimentellen Muster zuerst mit der analytischen Gleichung (6.1) simuliert werden und im zweiten Schritt mit numerischen Rechnungen noch eine Feinabstimmung durchgeführt wird. Es stellt sich nun die Frage, wie genau die Quadrupolkopplung bekannt sein muss, um die hohe Genauigkeit zu erlangen.

In Abbildung 6.3 sind für eine ^{2}H-π/2-Pulslänge von 3 µs Seitenbandenmuster mit verschiedenen Quadrupolkopplungen gezeigt. Insbesondere in d kann gesehen werden, dass der Unterschied zwischen den Mustern berechnet mit 120 kHz und 150 kHz gering ist. Um bei Abstandsmessungen eine hohe Genauigkeit zu erzielen, ist daher wichtig, den systematischen Fehler durch die Quadrupolkopplung zu berücksichtigen. Diese muss jedoch nicht mit großer Genauigkeit bekannt sein, eine Genauigkeit von ±20 kHz ist ausreichend, wodurch ein relativ großer Bereich aufgespannt wird. Kapitel 7 widmet sich der Messung und Berechnung von Quadrupolkopplungen in Wasserstoffbrücken mit einer viel höheren Genauigkeit. Für das Deuteronen-REREDOR ist folglich auch eine hohe Pulsleistung auf dem ^{2}H-Kanal wichtig. Für die DD(H)-Experimente wurde eine Pulsleistung entsprechend einem ^{2}H-π/2-Puls von 2 µs erzielt und für die DD(N)-Experimente von 3 µs. Entscheidend für die hohe Pulsleistung beim DD(N)-REREDOR auf beiden Kanälen war der Umbau eines kommerziell erhältlichen 4 mm-Triple Resonanz-Probenkopf für 2.5 mm-Rotoren. Dadurch konnte eine kleinere Spule verwendet und die Pulsleistung etwa verdoppelt werden.

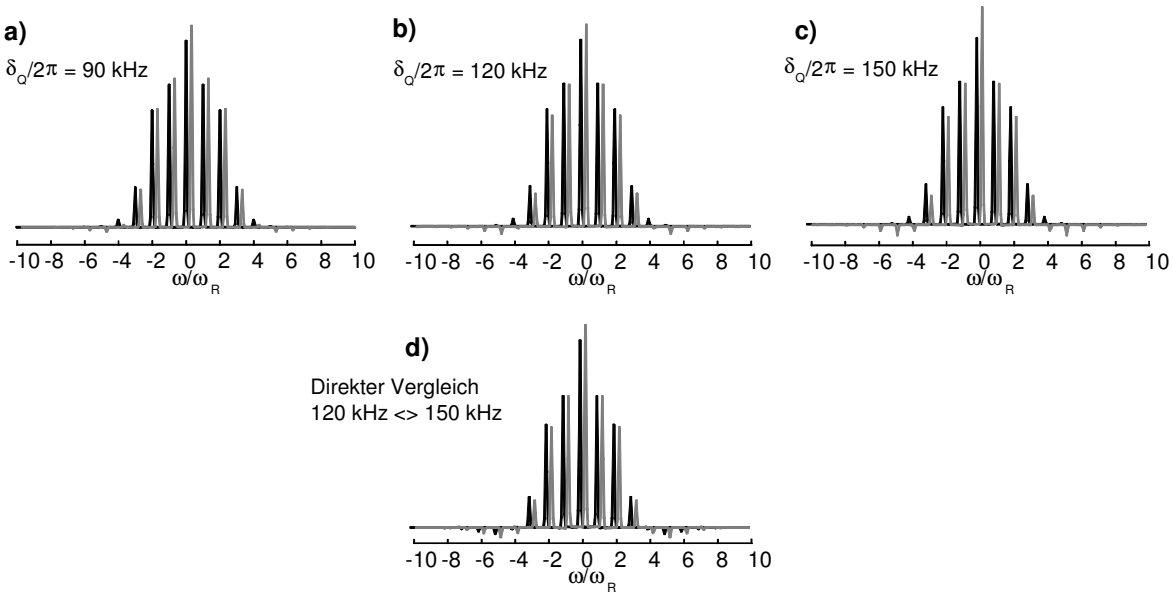


Abbildung 6.3: a)-c): Vergleich zwischen Seitenbandenmustern mit $\delta_Q/2\pi$=0 kHz (jeweils in schwarz) und Seitenbandenmustern (grau) mit a) $\delta_Q/2\pi$=90 kHz b) $\delta_Q/2\pi$=120 kHz und c) $\delta_Q/2\pi$=150 kHz. d) Direkter Vergleich zwischen den Mustern mit $\delta_Q/2\pi$=120 kHz (schwarz) und $\delta_Q/2\pi$=150 kHz (grau). Alle Muster sind berechnet mit je 16 Rotorperioden Wiedereinkopplungsblöcke bei einer MAS-Frequenz von 20 kHz mit $D_{is}/2\pi$=1500 Hz und einer ^{2}H-π/2-Pulslänge von 3 µs.

6.2 Abstandsmessungen am ^{2}H-^{15}N-Cytosin-Monohydrat

Die Deuteronen-REREDOR-Experimente wurden am Beispiel des ^{2}H-^{15}N-Cytosin-Monohydrats (**4**) getestet, welches aus ^{15}N-Cytosin-Monohydrat (**3**) durch Umkristallisation

aus D_2O hergestellt wurde. Der D/H-Austausch erfolgt an den N-gebundenen Protonen und im Hydrat. Die aromatischen C-H-Protonen H4 und H5 tauschen nicht gegen Deuteronen aus (siehe auch Abbildung 6.4a). Es wurden REREDOR-DD(N) und REREDOR-DD(H)-Experimente durchgeführt.

Die DD(N)-Experimente wurden bei einer Rotationsfrequenz von 20000 Hz durchgeführt, und die Pulsleistungen entsprachen einem ^{2}H-π/2-Puls von 3 µs und einem ^{15}N-π/2-Puls von 4 µs. Detektiert wurde das D1 in der N2–D1···N1-Brücke. DD(N)-Experimente mit unterschiedlichen Wiedereinkopplungszeiten sind in Abbildung 6.4 gezeigt, der gemessene N2–D1-Abstand wird mit (107.0±2) pm angegeben. Im Vergleich zur Genauigkeit der N-H-Messungen kovalenter Bindungsabstände von ±1 pm ist die Genauigkeit der N-D-Messungen etwas niedriger, da die zu bestimmenden Kopplungen wesentlich kleiner sind und die nötige Wiedereinkopplungszeit (13 bis 25 Rotorperioden) größer ist. Zum Vergleich: Bei den N-H-Messungen waren 4 bis 8 Rotorperioden bei 30 kHz MAS-Frequenz ausreichend.

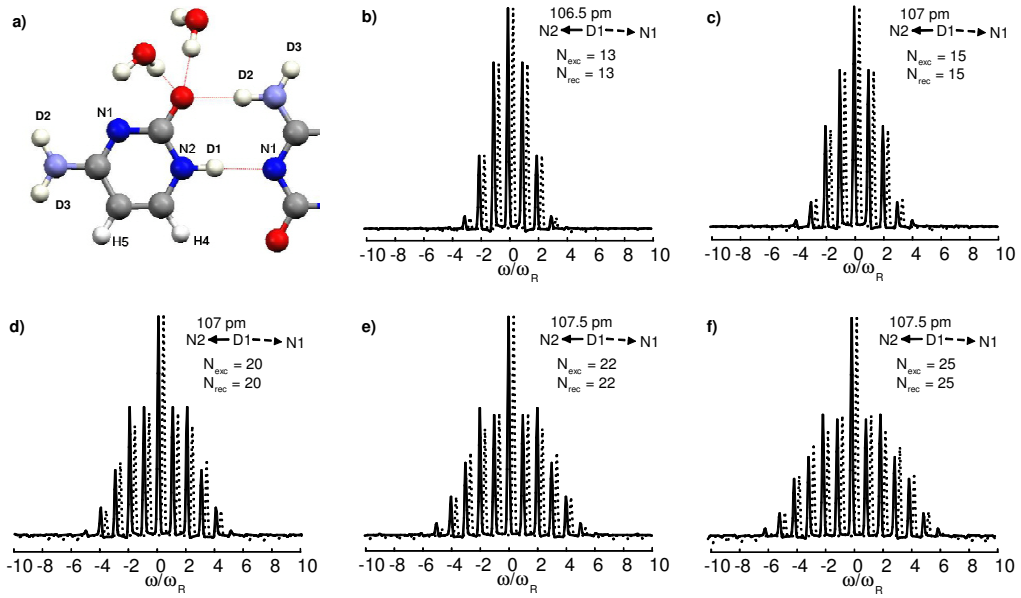


Abbildung 6.4: a) Ausschnitt aus der Struktur von ^{2}H-^{15}N-Cytosin-Monohydrat (4). b)-d) Experimentelle (durchgezogene Linie) und simulierte (gestrichelte Linie) Seitenbandenmuster von REREDOR-DD(N) am Deuteron D1 bei ν_R=20000 Hz mit verschiedenen Wiedereinkopplungszeiten: b) 13 Rotorperioden c) 15 Rotorperioden d) 20 Rotorperioden e) 22 Rotorperioden f) 25 Rotorperioden. Gemessen wurde jeweils der N2–D1-Abstand.

Die Messung des N2–H1-Abstands im ^{1}H-^{15}N-Cytosin-Monohydrat (Kapitel 4.4.2) ergab einen Wert von (107.5±1) pm, welcher mit den (107.0±2) pm in der deuterierten Verbindung zu vergleichen ist. Im Rahmen der Fehler ist die Differenz von 0.5 pm als nicht signifikant zu betrachten. Prinzipiell würde für den N–D-Abstand ein kleinerer Wert als für den N–H-Abstand erwartet werden, da die über die dipolare Kopplung gemessenen, effektiven Abstän-

de durch Schwingungseffekte länger werden und diese für das schwerere Deuterium weniger stark ausgeprägt sind. Auch an dieser Stelle ist noch Klärungsbedarf von Seiten der Theorie vorhanden, um den Isotopeneffekt auf die effektiven Abstände r_{NMR} vollständig zu quantifizieren.

Am Beispiel des Cytosin-Monohydrats wurde der Vorteil der Deuteronen-Detektion deutlich durch die schnellere Spin-Gitter(T_1)-Relaxationszeit. Während das H1 eine T_1-Zeit von etwa 30 s aufwies, hatte das D1 eine T_1-Zeit von deutlich unter 1 s. Ein REREDOR-DD(N)-Experiment konnte beim Cytosin-Monohydrat in 30 Minuten aufgenommen werden (gegenüber 7-10 Stunden für ein REREDOR-HH(N)).

Für die REREDOR-DD(H)-Messungen konnte auf einen gewöhnlichen 2.5 mm-Doppelresonanz-Probenkopf zurückgegriffen werden. Es wurde eine MAS-Frequenz von 29762 Hz benutzt, um die homonukleare Proton-Proton-Kopplung möglichst gut zu unterdrücken. Die Pulsleistungen waren auf beiden Kanälen sehr hoch, entsprechend jeweils einem π/2-Puls von 2 µs.

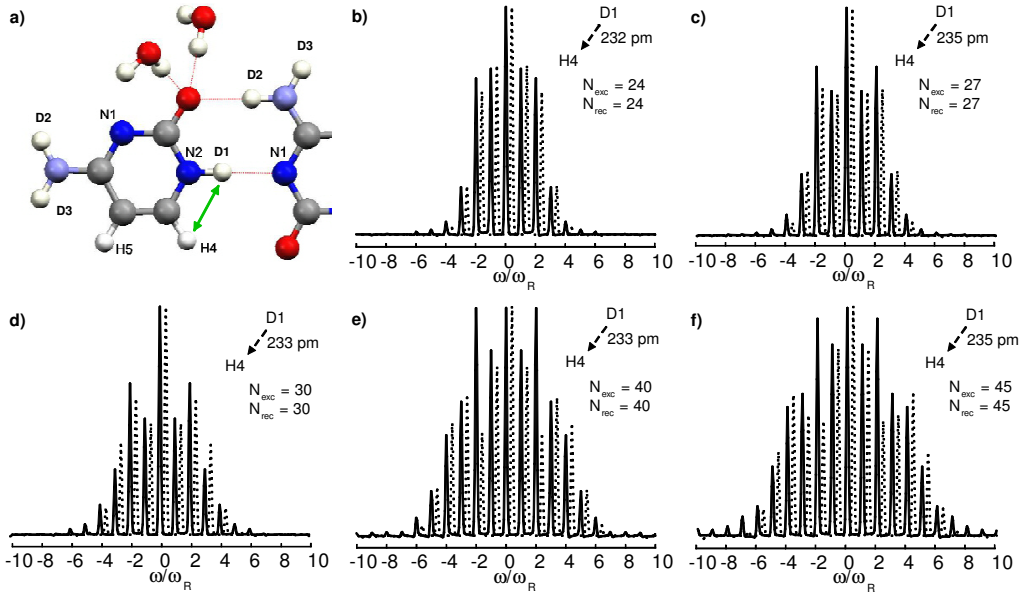


Abbildung 6.5: a) Ausschnitt aus der Struktur von ^{2}H-^{15}N-Cytosin-Monohydrat mit dem gemessenen D1–H4-Abstand. b)-d) Experimentelle (durchgezogene Linie) und simulierte (gestrichelte Linie) Seitenbandenmuster von REREDOR-DD(H) am Deuteron D1 bei ν_R=29762 Hz mit verschiedenen Wiedereinkopplungszeiten: b) 24 Rotorperioden c) 27 Rotorperioden d) 30 Rotorperioden e) 40 Rotorperioden f) 45 Rotorperioden.

In Abbildung 6.5 sind die Ergebnisse von einer Reihe DD(H)-Messungen mit verschiedenen Wiedereinkopplungszeiten dargestellt. Für den D1–H4-Abstand wurden Werte zwischen 232 pm und 235 pm erhalten. Die Genauigkeit wird auf etwa ±5 pm geschätzt. Die Ergebnisse stimmen ausgezeichnet mit dem Abstand aus der Neutronenstruktur von 236 pm überein.

In den experimentellen Seitenbandenmustern sind die Seitenbanden 2.Ordnung stets zu hoch (besonders bei längeren Wiedereinkopplungszeiten) und wurden nicht beim Fit berücksichtigt. Dieser Effekt wird der starken homonuklearen Störkopplung zwischen H4 und H5 zugeschrieben. Zum Vergleich: Diese Störkopplung ist mit etwa 7500 Hz etwa fünf Mal so groß wie die zu messende D–H-Kopplung von 1450 Hz. Es konnte gezeigt werden, dass die Überhöhung dieser Seitenbanden (und auch der Zentralbande) stark von der ^{1}H-Pulsleistung abhängt.

6.3 Deuteronen-Korrelationsspektroskopie

Nachdem im vorangegangenen Abschnitt eine Pulssequenz vorgestellt wurde, mit der die Dipol-Dipol-Kopplung zwischen Deuteronen und einem Spin-1/2-Kern gemessen werden konnte, wird in diesem Kapitel gezeigt, wie diese Sequenz genutzt werden kann, um Korrelationsspektroskopie zu betreiben. Die Deuteronen-Peaks sind unter schnellem MAS gegenüber den Protonen-Peaks etwas besser aufgelöst, was auf den ersten Blick verwundern mag, da durch das 6.5mal kleinere gyromagnetische Verhältnis die chemische Verschiebungsdispersion von Deuteronen gegenüber Protonen wesentlich geringer ist. Dieser Nachteil wird jedoch im Festkörper durch die wesentlich kleinere Dipol-Dipol-Kopplung der Deuteronen ausgeglichen. Die Linienbreite ist unter schnellem MAS effektiv durch Wechselwirkungen bestimmt, die eine homogene Linienverbreiterung verursachen, und das sind homonukleare Dipol-Dipol-Kopplungen in Mehrspinsystemen. Die Kopplungen zwischen Deuteronen und Protonen und insbesondere die homonukleare Deuteronen-Kopplung sind wesentlich kleiner als die Proton-Proton-Kopplung, wodurch der Nachteil der geringeren Dispersion ausgeglichen wird. Die Quadrupolkopplung als rein inhomogene Wechselwirkung wird unter MAS vollständig ausgemittelt (Vgl. Kapitel 3.1). Im Festkörper sind die ^{2}H-Spektren daher oft besser aufgelöst als die ^{1}H-Spektren, was die Nutzung der ^{2}H-chemischen Verschiebung motiviert, um beispielsweise in Korrelationsexperimenten Informationen über die Struktur von Substanzen zu erhalten.

Eine Untersuchung zu den Einflüssen von ^{2}H/^{1}H-Isotopenaustausch auf die chemische Verschiebung in Wasserstoffbrücken findet sich in [Smirnov 96]. Qualitativ kann festgestellt werden, dass die isotrope chemische Verschiebung der Deuteronen in Wasserstoffbrücken etwas kleiner sein sollte als die der Protonen, da die Nullpunktsschwingungsenergie der Deuteronen kleiner und die Stärke der Wasserstoffbrücke geringer ist. Dieser Effekt ist jedoch im Bereich der Messgenauigkeit oder gar kleiner. In einer weiteren Überlegung muss berücksichtigt werden, dass der schwingungsgemittelte Tensor der chemischen Verschiebung gemessen wird und die Schwingungsamplituden der Deuteronen kleiner als die der Protonen sind. Qualitativ kann abgeschätzt werden, dass die Abstandsabhängigkeit der isotropen chemischen

Verschiebung nicht größer ist als die der Dipol-Dipol-Kopplung, so dass auch durch die Schwingungsmittelung keine großen Unterschiede in der $^2H/^1H$ isotropen chemischen Verschiebung erwartet werden. Für die Dipol-Dipol-Kopplung wurde der schwingungsgemittelte Tensor in Kapitel 6.2 gemessen und keine großen Unterschiede für $^2H/^1H$ festgestellt. Aus diesen Überlegungen kann geschlossen werden, dass es zulässig ist, mit der chemischen Verschiebung der Deuteronen zu arbeiten, und dass im Rahmen der Messgenauigkeit keine signifikanten Abweichungen zur ^1H-chemischen Verschiebung und damit keine Zuordnungsfehler gemacht werden können.

Eine weitere wichtige Überlegung für die praktische Anwendung ist, dass die Deuterierung häufig sehr einfach durch Umkristallisation aus einem protischen, deuteriertem Lösungsmittel (D_2O, D_1-Methanol, D_1-Ethanol) geschehen kann. Dabei findet der Isotopenaustauch selektiv nur an den aciden Protonen (N–H, O–H, …) statt, wohingegen aliphatische und aromatische C-gebundene Protonen nicht austauschen. Dadurch können die Wasserstoffpositionen in 2 Gruppen, Deuteronen und Protonen, aufgeteilt und ein weiterer Auflösungsgewinn erzielt werden. Insbesondere bei supramolekularen und biologischen Verbindungen überlappen häufig die chemischen Verschiebungen von aromatischen Protonen mit denen der interessierenden Protonen von Wasserstoffbrücken, welche durch die Deuterierung unterschieden werden können. Weiterhin können durch eine ^2H-^1H-Korrelationsspektroskopie Nachbarschaften zwischen den beiden Wasserstoffgruppen gesehen werden, was eine gute Ergänzung zur ^1H-^1H-Korrelation über Doppelquanten darstellt.

Die Pulssequenz, mit welcher chemische Verschiebungskorrelationen zwischen Deuteronen und Stickstoff beziehungsweise Protonen gemessen wurden, ist in Abbildung 6.6 dargestellt. Sie wird als HSQC-DD(X) bezeichnet (Heteronuclear Single Quantum Correlation) und erinnert an ein invers-detektiertes REPT-HSQC [Schnell 01b]. Die beiden Wiedereinkopplungsblöcke, Anregung und Rekonversion, sind dem REREDOR-DD(X) entnommen, alle π-Pulse befinden sich auf dem X-Kanal.

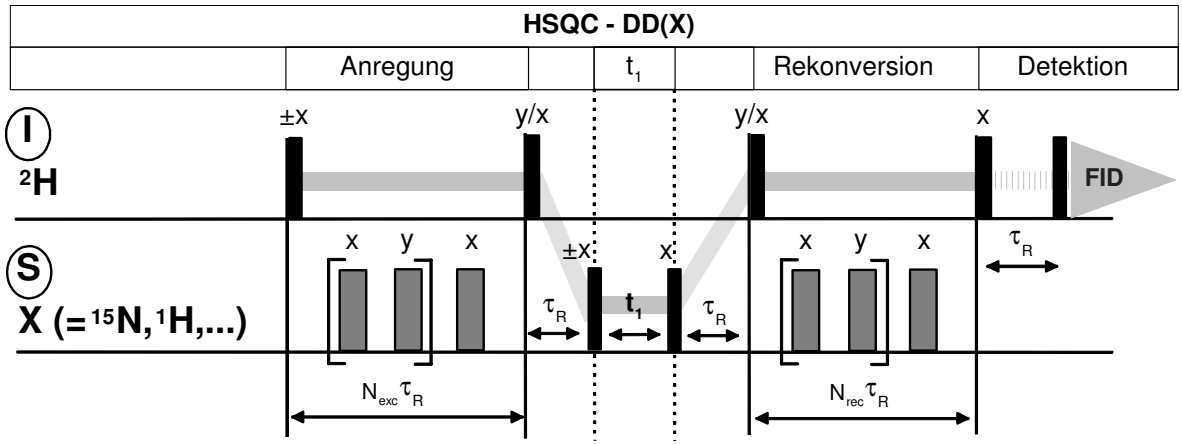


Abbildung 6.6: Pulssequenz zu HSQC-DD(X)-Experimenten. Das t_1-Intervall zwischen den beiden X-π/2-Pulsen wird von 0 µs beginnend in ganzen Rotorperioden inkrementiert. Die graue Linie deutet den Pfad der transversalen Magnetisierung an.

Auf den *I*-Spins (^{2}H) wird eine transversale Magnetisierung erzeugt, die sich unter der dipolaren Kopplung während des Anregungsblocks entwickelt:

$$\hat{I}_y \xrightarrow{N_{exc}\tau_R} \hat{I}_y \cos\Phi_D^{exc} + \hat{I}_x\hat{S}_z \sin\Phi_D^{exc} \tag{6.4}$$

Durch den Phasenzyklus wird die übrig bleibende $\hat{I}_y$-Magnetisierung weggefiltert und nur der gemischte Zustand selektiert. Dieser wird durch die folgenden beiden π/2-Pulse auf *I* und *S* in einen $\hat{I}_z\hat{S}_y$-Zustand transferiert, der sich unter der chemischen Verschiebung der *S*-Spins während der t_1-Zeit entwickelt:

$$\hat{I}_x\hat{S}_z \sin\Phi_D^{exc} \longrightarrow \hat{I}_z\hat{S}_y \sin\Phi_D^{exc} \xrightarrow{t_1} \hat{I}_z\hat{S}_y \sin\Phi_D^{exc}\cos\Phi_{CS}^{S} + \hat{I}_z\hat{S}_x \sin\Phi_D^{exc}\sin\Phi_{CS}^{S} \tag{6.5}$$

Die beiden Zustände $\hat{I}_z\hat{S}_y$ und $\hat{I}_z\hat{S}_x$ werden durch ein gewöhnliches States-TPPI-Schema [States 82] getrennt selektiert und damit der y- und x-Anteil der chemischen Verschiebungsentwicklung (Real- und Imaginärteil) separat detektiert. Die Zustände werden durch die zwei weitere π/2-Pulse auf *I* und *S* in einen $\hat{I}_x\hat{S}_z$-Zustand transferiert, der sich im Rekonversionsblock wieder in $\hat{I}_y$-Magnetisierung zurückentwickelt, welche schließlich detektiert wird. Am Beispiel des y-Anteils lautet die Entwicklung:

$$\begin{aligned} &\hat{I}_z\hat{S}_y \sin\Phi_D^{exc}\cos\Phi_{CS}^{S} \longrightarrow \hat{I}_x\hat{S}_z \sin\Phi_D^{exc}\cos\Phi_{CS}^{S} \xrightarrow{N_{rec}\tau_R} \\ &\hat{I}_x\hat{S}_z \sin\Phi_D^{exc}\cos\Phi_{CS}^{S}\cos\Phi_D^{rec} + \hat{I}_y \sin\Phi_D^{exc}\cos\Phi_{CS}^{S}\sin\Phi_D^{rec} \end{aligned} \tag{6.6}$$

Bei gleicher Länge des Anregungs- und Rekonversionsblocks kann zusammenfassend für das Signal S(y) und S(x) des y- und x-Anteils der chemischen Verschiebung der *S*-Spins geschrieben werden:

$$\begin{aligned} S(y) &\propto \left\langle \sin^2\Phi_D \cos\Phi_{CS}^{S} \right\rangle_{\beta,\gamma} \\ S(x) &\propto \left\langle \sin^2\Phi_D \sin\Phi_{CS}^{S} \right\rangle_{\beta,\gamma} \end{aligned} \tag{6.7}$$

Das Intervall t_1 wird von 0 µs beginnend in vollen Rotorperioden inkrementiert, wodurch die Generierung von Rotationsseitenbanden verhindert wird und der FID der *S*-Spins in der indirekten Dimension aufgenommen wird. Der FID der *I*-Spins wird in der direkten Dimension aufgenommen und eine 2D-Fourier-Transformation liefert Kreuzsignale zwischen den chemischen Verschiebungen der beiden Spinsorten. Die Intensität dieser Kreuzsignale ist durch den Ausdruck $\left\langle \sin^2\Phi_D \right\rangle$ bestimmt, wodurch bei nicht zu nahen Recoupling-Zeiten nur räumlich

nahe beieinander liegende Spinpaare starke Kreuzsignale liefern und Nachbarschaftsverhältnisse in den Strukturen aufgeklärt werden können.
Die Pulssequenz hat zwei Besonderheiten, die für die Anwendung auf Deuterium wichtig sind. Die π/2-Pulse auf *I* und *S* sind nicht gleichzeitig, wie beispielsweise beim invers-detektierten REPT-HSQC von Spin-1/2-Kernen, sondern sind eine Rotorperiode getrennt. Dadurch kann zum einen sichergestellt werden, dass die Rotorphase von allen ^{2}H-π/2-Pulsen die gleiche ist und zum anderen werden Interferenzen bei der Pulsgebung vorgebeugt. Diese können entstehen, wenn in einem Tripel-Resonanz-Probenkopf mit hoher Leistung auf zwei niederfrequenten Kanälen gleichzeitig gepulst würde. Der Einschub der beiden vollen Rotorperioden ist unkritisch, da die Magnetisierung in dieser Zeit entlang *z* liegt und sich nicht entwickelt.
Die zweite Besonderheit kommt durch die Platzierung der zentralen Wiedereinkopplungs-π-Pulse auf den *S*-Spins. Dadurch wird die chemische Verschiebungsentwicklung der Deuteronen (*I*-Spins) nicht refokussiert und die Entwicklung während des Anregungsblocks lautet eigentlich (vergleiche mit Gl. (6.4)):

$$\hat{I}_y \xrightarrow{N_{exc}\tau_R} \hat{I}_y \cos\Phi_D^{exc} + \hat{I}_x\hat{S}_z \sin\Phi_D^{exc} \cos\Phi_{CS}^{I,exc} + \hat{I}_y\hat{S}_z \sin\Phi_D^{exc} \sin\Phi_{CS}^{I,exc} \tag{6.8}$$

Analoges gilt für den Rekonversionsblock. Damit hätten die Signale aus Gl. (6.7) eine unerwünschte Offsetabhängigkeit von Φ_{CS}^I. Diese kann jedoch vermieden werden, in dem der Phasenzyklus erweitert wird und nicht nur mit einem $\frac{\pi}{2}\hat{I}_y$-Puls der kosinusmodulierte $\hat{I}_x\hat{S}_z$-Zustand selektiert wird, sondern auch mit einem $\frac{\pi}{2}\hat{I}_x$-Puls der sinusmodulierte $\hat{I}_y\hat{S}_z$-Zustand. Am Ende werden die Signalanteile addiert, so dass bei gleichen Längen von Anregungs- und Rekonversionsblock die Offsetabhängigkeit verschwindet:

$$\begin{aligned} S(y) &\propto \left\langle \sin^2\Phi_D \cos\Phi_{CS}^S \underline{\cos^2\Phi_{CS}^I} + \sin^2\Phi_D \cos\Phi_{CS}^S \underline{\sin^2\Phi_{CS}^I} \right\rangle_{\beta,\gamma} \\ &= \left\langle \sin^2\Phi_D \cos\Phi_{CS}^S \right\rangle_{\beta,\gamma} \end{aligned} \tag{6.9}$$

Durch diesen Trick behalten die Gl. (6.7) ihre Gültigkeit, und auf einen π-Puls auf den Deuteronen kann verzichtet werden.
Am Beispiel des ^{2}H-^{15}N-Cytosin-Monohydrats wurden die Experimente getestet, wobei Korrelationsspektren zwischen ^{2}H und ^{15}N als auch zwischen ^{2}H und ^{1}H aufgenommen wurden.
Die Struktur von ^{2}H-^{15}N-Cytosin-Monohydrat mit Nummerierung der Atome und Kennzeichnung der deuterierten Positionen ist noch einmal in Abbildung 6.7 wiederholt.

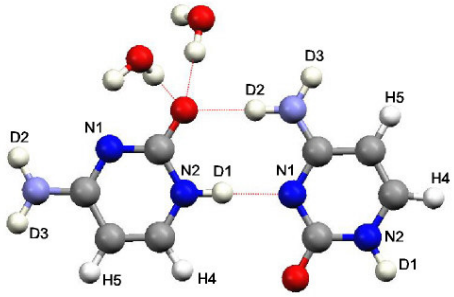


Abbildung 6.7: Struktur des ^{2}H-^{15}N-Cytosin-Monohydrats mit Nummerierung der Wasserstoffe und Stickstoffe. Deuterierte Positionen sind mit D bezeichnet.

Schon die einfache Verbindung Cytosin-Monohydrat ist ein Paradebeispiel für den Zugewinn an Auflösung, der durch die Deuterierung erzielt werden kann. In Abbildung 6.8 sind eindimensionale Spektren vor und nach der Umkristallisation aus D_2O gezeigt. Vorher war nur das Proton H1 der N–H···N-Brücke gut aufgelöst, während die Peaks der restlichen Protonen sich überlagerten. Nach der Deuterierung können im ^{1}H-Spektrum die beiden aromatischen Protonen H4 und H5 eindeutig identifiziert werden und selbst die beiden Wasserstoffe D2 und D3 an der ND_2-Gruppe können unterschieden werden. D2 bildet eine Wasserstoffbrücke zum Carbonyl-Sauerstoff des Nachbarmoleküls und D3 bildet eine Wasserstoffbrücke zum Wasser.

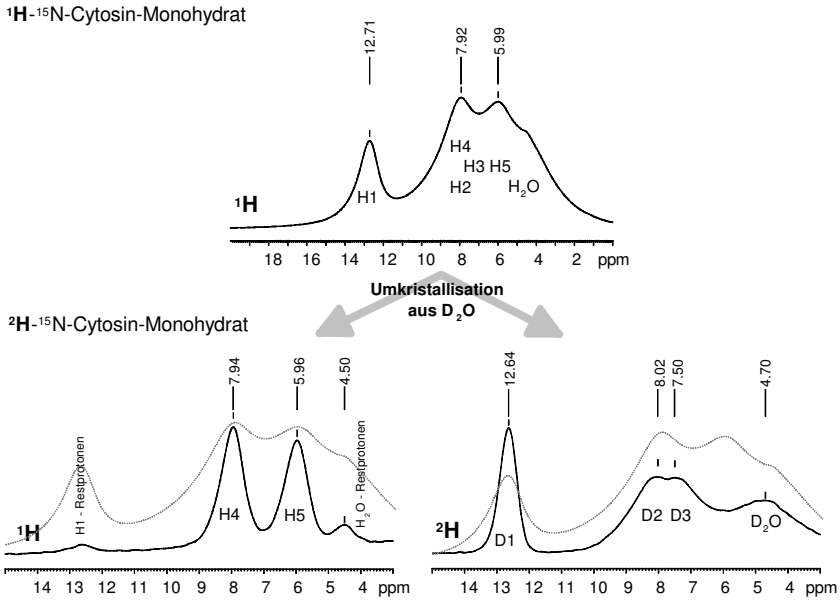


Abbildung 6.8: Spektren von Cytosin-Monohydrat vor (oben) und nach (unten) der Deuterierung bei 30 kHz MAS. Unten links: ^{1}H-Spektrum, unten rechts: ^{2}H-Spektrum. Durch die Deuterierung kann jede einzelne Wasserstoffposition aufgelöst werden. Zum Vergleich ist das Spektrum vor der Deuterierung (gepunktet) mit eingezeichnet.

Abbildung 6.9 zeigt zwei ^{2}H-^{15}N-Korrelationsspektren (HSQC-DD(N)) mit zwei verschiedenen Wiedereinkopplungszeiten. Bei der kurzen Wiedereinkopplungszeit ist nur die stärkste

Korrelation, nämlich die kovalent gebundenen N2 und D1, zu sehen. Wird die Wiedereinkopplungszeit verlängert, so tauchen auch D2 und D3 auf. Nach den Peak-Intensitäten sollte D2 näher an N1 sein als an N2, was auch in der tatsächlichen Geometrie des Systems der Fall ist. Die beiden Spektren zeigen eine hohe Qualität, die mit Korrelationsexperimenten von Spin-1/2-Kernen vergleichbar ist. Die Quadrupolkopplung des Deuterons von 120 kHz bleibt durch die entwickelte Pulssequenz ohne Wirkung auf die Spektren.

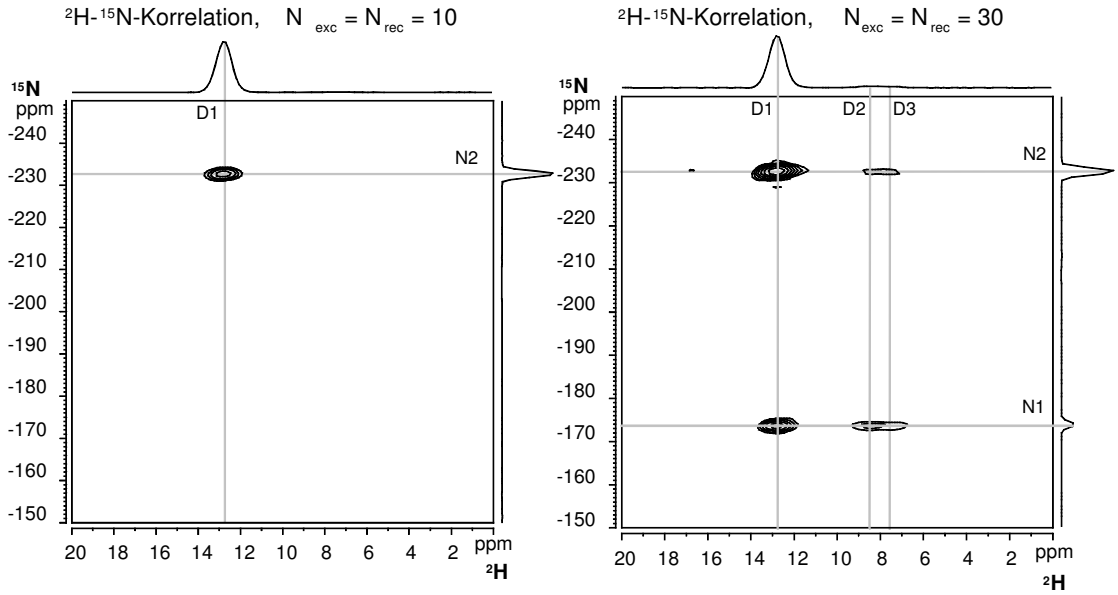


Abbildung 6.9: HSQC-DD(N)-Spektren von ^{2}H-^{15}N-Cytosin-Monohydrat bei 20 kHz MAS und Wiedereinkopplungsblöcken von jeweils 10 Rotorperioden (links) und 30 Rotorperioden (rechts). Die 1D-Spektren neben den Achsen sind Projektionen.

Vom ^{15}N-Cytosin-Monohydrat wurden ^{15}N-^{1}H-Korrelationsspektren vor und nach der Deuterierung aufgenommen (Abbildung 6.10). Dazu wurde ein ^{15}N-detektiertes REPT-HSQC [Schnell 01b] verwendet, da es einen kurzen Phasenzyklus besitzt und in der indirekten Dimension der kürzere Protonen-FID aufgenommen wird, wodurch die Experimentdauer minimiert wird. Die Protonen im Cytosin-Monohydrat relaxieren, wie bereits erwähnt, im Vergleich zu den Deuteronen sehr langsam (T_1 von etwa 30s). Im Spektrum der deuterierten Verbindung sind die aromatischen Protonen H4 und H5 mit ihren Kreuzpeaks zu N2 und N1 deutlich zu erkennen. Die Zuordnung ist anhand der Intensitäten der Peaks eindeutig möglich, da die C-H4-Gruppe dem N2 benachbart ist und die C-H5-Gruppe keine ^{15}N-Markierung in unmittelbarer Umgebung hat. In Kombination mit dem HSQC-DD(N)-Experiment können durch die Deuterierung alle chemischen Verschiebungen der Wasserstoffe nicht nur aufgelöst, sondern auch eindeutig zugeordnet werden. Im ^{15}N-^{1}H-Korrelationsspektrum des nicht-deuterierten Cytosin-Monohydrats (Abbildung 6.10 rechts) ist die kovalente N2-H1-Korrelation dominant, aus der die beiden ^{15}N zugeordnet werden können. Die Kreise zeigen Gebiete an, in denen sich mehrere Kreuzpeaks überlagern, was eine Zuordnung der Protonen zu ihren chemischen Verschiebungen unmöglich macht.

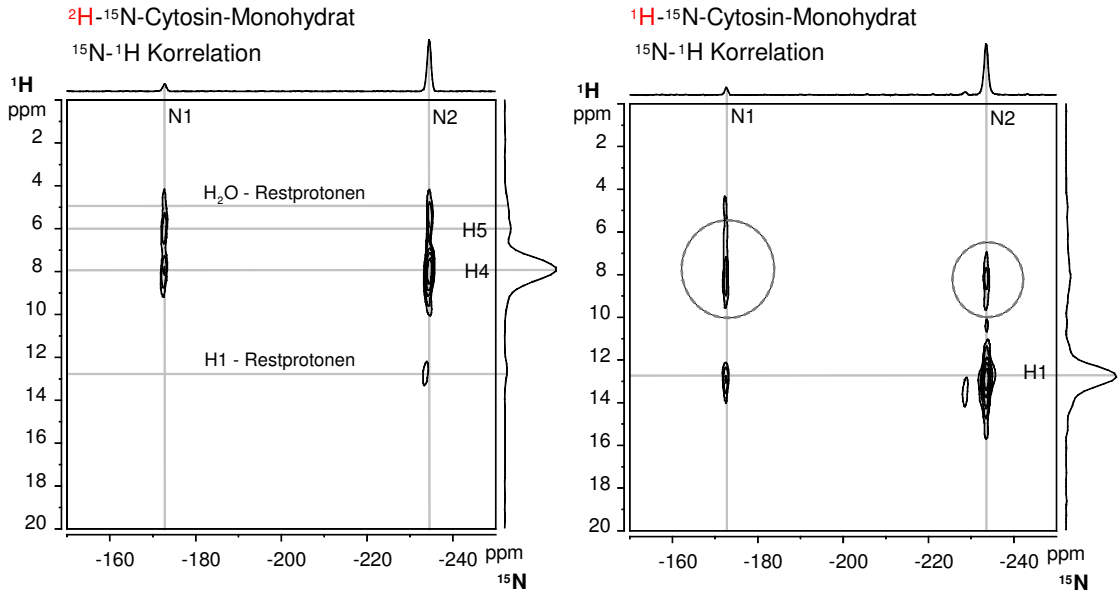


Abbildung 6.10: ^{15}N-^{1}H-REPT-HSQC Korrelationsspektren von deuteriertem (links) und vollprotoniertem (recht) ^{15}N-Cytosin-Monohydrat bei 30 kHz MAS mit jeweils 10 Rotorperioden Wiedereinkopplungszeit. Die eindimensionalen Spektren neben den Achsen sind Projektionen.

Diese ersten Ergebnisse deuten schon das Potential dieser Methode an, als nützliches Werkzeug bei der Untersuchung von supramolekularen oder biologischen Verbindungen mit der Festkörper-NMR zu dienen.

Interessant sind auch die Ergebnisse der ^{2}H-^{1}H-Korrelation. Der Vorteil dieser Methode ist, dass sie prinzipiell mit unmarkierten Ausgangssubstanzen auskommt, welche dann einer einfachen Deuterierung unterworfen werden können, und dass sie mit gewöhnlichen Doppelresonanz-Probenköpfen durchgeführt werden kann.

In Abbildung 6.11 ist ein HSQC-DD(H) am Cytosin-Monohydrat dargestellt. Es zeigt die Korrelation zwischen den Deuteronen D1, D2 und D3 mit den aromatischen Protonen H4 und H5 sowie den Restprotonen des Kristallwassers. Die größte Intensität hat der Peak der benachbarten D1 und H4, wodurch die beiden aromatischen Protonen zugeordnet werden können. Die Verhältnisse bei den Peaks von D2, D3 sind etwas komplizierter und können nur unter Berücksichtigung eines größeren Ausschnitts aus der Kristallstruktur, als in Abbildung 6.7 gezeigt, interpretiert werden. Darauf soll an dieser Stelle nicht eingegangen, sondern das Augenmerk auf eine weitere Verbindung gerichtet werden, an der das HCQC-DD(H)-Experiment getestet wurde.

Um die Möglichkeiten dieses Experiments an einer größeren Verbindung zu demonstrieren, wurde deuteriertes, D_7-L-Histidin-Monohydrat-Hydrochlorid durch Umkristallisation aus D_2O hergestellt. Die Struktur der Verbindung und ein HSQC-DD(H)-Experiment zeigt Abbildung 6.12.

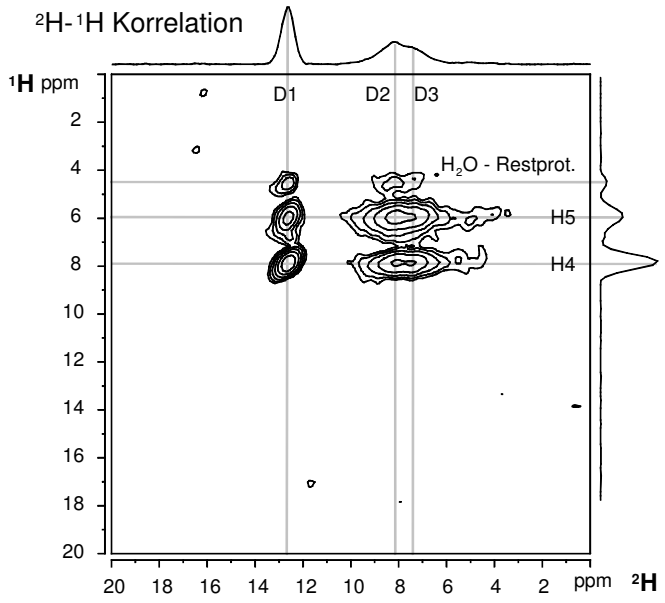


Abbildung 6.11: HSQC-DD(H) von deuteriertem Cytosin-Monohydrat bei 30 kHz MAS und jeweils 30 Rotorperioden Wiedereinkopplungszeit. Die eindimensionalen Spektren neben den Achsen sind Projektionen.

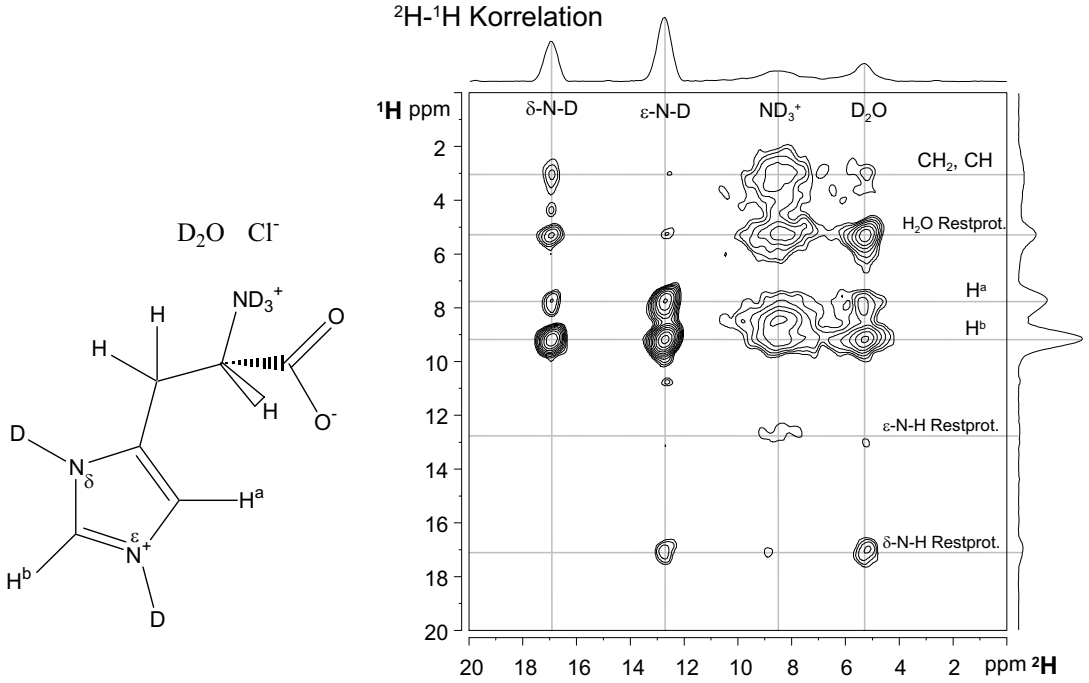


Abbildung 6.12: Struktur von D_7-L-Histidin-Monohydrat-Hydrochlorid und HSQC-DD(H)-Spektrum bei 30 kHz MAS und 15 Rotorperioden Wiedereinkopplungszeit. Die eindimensionalen Spektren neben den Achsen sind Projektionen.

Das Spektrum ist von sehr guter Qualität und zeigt eine Reihe von Korrelationen. Als Beispiel für die Anwendbarkeit soll hier die Zuordnung von H^a und H^b herausgegriffen werden. Im gewöhnlichen Histidin überlagern sich die Peaks der beiden aromatischen Protonen H^a und H^b mit dem breiten Peak der NH_3-Gruppe, welche jedoch bei der Umkristallisation ihre Protonen

gegen Deuterium austauscht. In der deuterierten Verbindung sind H^a und H^b dann aufgelöst, es kann die chemische Verschiebung gemessen und die Zuordnung über die Kopplung zu den Imidazol-Deuteronen getroffen werden. Das H^a ist nur zum ε-N-D benachbart, während das H^b zu beiden N-D benachbart ist.

Interessant sind auch die Kreuzpeaks zwischen Deuteronen und Restprotonen, die an Positionen sitzen, welche prinzipiell einen Isotopenaustausch eingehen. Es besteht durchaus die experimentelle Freiheit, durch Verwendung von D_2O/H_2O-Mischungen einen mehr oder weniger hohen Grad an Deuterierung einzustellen, da Restprotonen für zusätzliche Kreuzpeaks verantwortlich sind, aus denen im Einzelfall weitere Informationen gewonnen werden können.

7 Messung und Berechnung von Deuteron-Quadrupolkopplungen

Ähnlich wie die chemische Verschiebung ist auch die Quadrupolkopplung von Deuteronen in Wasserstoffbrücken eine Eigenschaft, die sehr sensitiv auf die Geometrie reagiert. Untersuchung hierzu, wie beispielsweise die Quadrupolkopplung mit Abständen in Wasserstoffbrücken korreliert werden kann, finden sich in [Zhao 02, Turner 00, Berglund 80, Ono 02]. Eine theoretische Betrachtung zu Schwingungseffekten auf Quadrupolkopplungen behandelt [Henry 85]. In diesem Kapitel geht es darum, wie Quadrupolkopplungen mit Methoden der Festkörper-NMR in wasserstoffverbrückten Systemen gemessen und zusätzlich quantenchemisch berechnet werden können. Für die theoretische Berechnung sind Quadrupolkopplungen interessant, da sie vom elektrischen Feldgradienten abhängen und daher eine Eigenschaft der Grundzustandswellenfunktion sind. Aus diesem Grund ist ihre Berechnung sehr schnell und es können Dynamik-Simulationen durchgeführt werden. Im Vergleich dazu muss die chemische Verschiebung in einem störungstheoretischen Ansatz berechnet werden, wozu Wellenfunktionen angeregter Zustände benötigt werden, wodurch ihre Berechnung langwierig ist und entsprechende Dynamiksimulationen erschwert sind.
Die klassische Methode, eine Quadrupolkopplung in der NMR zu messen, ist die Auswertung des statischen Pake-Patterns. Das funktioniert in der Regel nur gut, wenn genau ein Deuterium im Molekül angereichert ist, was hohen synthetischen Aufwand erfordert. Es soll daher ein Experiment zum Einsatz kommen, welches erst kürzlich entwickelt wurde [Hoffmann 04] und mit dem die simultane Messung von Quadrupolkopplungen in mehrfach deuterierten Systemen möglich ist, welche durch einfache Umkristallisation aus deuterierten, protischen Lösungsmitteln zugänglich sind.

7.1 Methodische Grundlagen

Für die experimentelle Bestimmung der Quadrupolkopplungen wurde ein zweidimensionales Experiment verwendet [Hoffmann 04], welches quasistatische Muster in der direkten Dimension mit der ^{2}H-chemischen Verschiebungen in der indirekten Dimension kombiniert. Es ermöglicht somit die gleichzeitige Bestimmung der Quadrupolkopplungen von mehreren, durch ihre chemische Verschiebung identifizierbaren Kernen.
Das Experiment wird unter schneller Probenrotation in einem Winkel β_m durchgeführt, welcher leicht vom magischen Winkel von 54.7° abweicht. Diese Technik wird als OMAS (Off-magic-angle Spinning) bezeichnet. Unter diesen Bedingungen wird die Quadrupolkopplung

durch das MAS nicht vollständig ausgemittelt, sondern es werden quasistatische Spektren erhalten, bei welchen die Linienform einem statischen Pake-Pattern entspricht. Dieses Pake-Pattern ist jedoch um den Skalierungsfaktor $\frac{1}{2}\left(3\cos^2\beta_m - 1\right)$ schmaler.

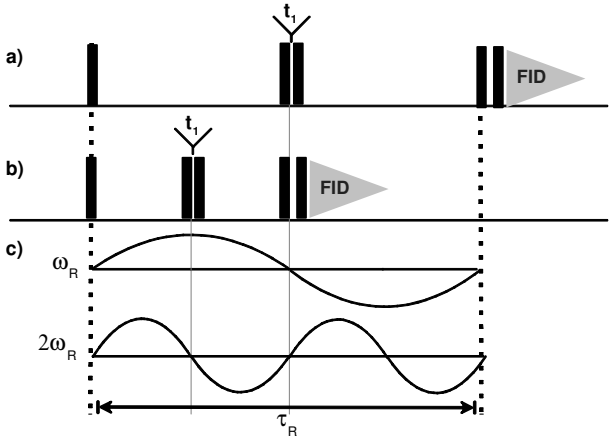


Abbildung 7.1: Pulssequenzen für das ^{2}H DQ OMAS Experiment mit einer Anregungszeit von a) $\tau_R/2$ und b) $\tau_R/4$. Das t_1-Intervall wird in ganzen Rotorperioden inkrementiert. c) Schematische Darstellung des ω_R- und $2\omega_R$-modulierten Terms der Quadrupolwechselwirkung.

Sind nun mehrere Deuteronen in einer Verbindung, so überlagern sich die quasistatischen Muster und eine Trennung ist in der Regel sehr schwierig. Die Idee des ^{2}H DQ OMAS-Experiments ist die Trennung und Zuordnung der Muster über die ^{2}H-chemische Verschiebung. Die Pulssequenz ist in Abbildung 7.1 dargestellt. Nach der Anregung durch einen π/2-Puls entwickelt sich die transversale Magnetisierung unter der Quadrupolkopplung gemäß

$$\hat{I}_x \xrightarrow{0\to\tau} \hat{I}_x \cos\Phi_Q(0;\tau) + 2i\left(\hat{I}_z\hat{I}_y + \hat{I}_y\hat{I}_z\right)\sin\Phi_Q(0;\tau) \tag{7.1}$$

mit der akquirierten Phase der Quadrupolkopplung $\Phi_Q(0;\tau)$. Der „Antiphasenzustand“ $\hat{I}_z\hat{I}_y + \hat{I}_y\hat{I}_z$ wird durch einen weiteren π/2-Puls in eine Doppelquantenkohärenz $\hat{I}_x\hat{I}_y + \hat{I}_y\hat{I}_x$ überführt, welche sich während des t_1-Intervalls unter der chemischen Verschiebung entwickelt. Doppelquantenkohärenzen haben den Vorteil, dass sie nicht durch restliche Quadrupolkopplungen verbreitert sind. Durch Inkrementierung der t_1-Zeit in ganzen Rotorperioden wird mit Hilfe eines TPPI-Schemas [Marion 83] in der indirekten Dimension ein Spektrum aufgenommen, welches die doppelten chemischen Verschiebungen aufweist, da sich ein DQ-Zustand zeitlich entwickelt. Da Doppelquantenkohärenzen nicht direkt detektierbar sind, werden sie in einer Art Zeitumkehr durch 2 weitere π/2-Pulse wieder in detektierbare Einquantenzustände rekonvertiert. Für t_1=0 ist somit die Abfolge:

$$\hat{I}_z \xrightarrow{\text{Anregung}} \left(\hat{I}_x\hat{I}_y + \hat{I}_y\hat{I}_x\right)\sin\Phi_Q(0;\tau) \xrightarrow{\text{Rekonversion}} \hat{I}_z \sin\Phi_Q(0;\tau)\sin\Phi_Q(\tau;2\tau) \quad (7.2)$$

Der $\hat{I}_z$-Zustand wird durch einen Auslesepuls detektiert und das Signal $S(t_2)$ wird durch

$$S(t_2) \propto \left\langle \sin\Phi_Q(0;\tau)\sin\Phi_Q(\tau;2\tau)\cdot\cos\left[\frac{\delta_Q}{4}\left(3\cos^2\beta-1\right)\left(3\cos^2\beta_m-1\right)t_2\right]\right\rangle_{\beta,\gamma} \quad (7.3)$$

beschrieben mit dem „Off-magic-angle“ β_m und den Eulerwinkeln β und γ, über die eine Pulvermittelung durchgeführt wird. Die akquirierte Phase wird der Übersicht halber an dieser Stelle nur für einen Asymmetrieparameter η_Q=0 angegeben:

$$\begin{aligned}\Phi_Q(t';t'') = \int_{t'}^{t''} dt\,\frac{\delta_Q}{4}\Big[&3\sin^2\beta\cdot\sin^2\beta_m\cdot\cos\left(2\omega_R t+2\gamma\right)\\ &-3\sin 2\beta\cdot\sin 2\beta_m\cdot\cos\left(\omega_R t+\gamma\right)+\left(3\cos^2\beta-1\right)\cdot\left(3\cos^2\beta_m-1\right)\Big]\end{aligned} \quad (7.4)$$

Für die Durchführung des Experiments haben sich zwei Wiedereinkopplungsdauern für τ als geeignet erwiesen: eine viertel Rotorperiode $\tau_R/4$ und eine halbe Rotorperiode $\tau_R/2$. Aus Abbildung 7.1c ist zu erkennen, dass bei $\tau_R/4$ sowohl der ω_R-modulierte als auch der $2\omega_R$-modulierte Term zur akquirierten Phase beitragen, während im Falle von $\tau_R/2$ nur der ω_R-modulierte Term beiträgt.
Der Winkel β_m wird vor jedem Experiment durch eine Kalibrierung mit p-Nitrobenzylalkohol bestimmt, welcher an der der Methylengruppe deuteriert ist und dessen Quadrupolkopplung von 102 kHz bekannt ist. Da experimentell nicht unterschieden werden kann, ob der Winkel kleiner oder größer als der Magische Winkel ist, wird die Differenz $\Delta\beta$ angegeben. Bei einem $\Delta\beta$ unter 2° hat die Auslenkungsrichtung des Winkels keinen Einfluss auf die berechneten Spektren.

7.2 Experimentelle Ergebnisse

Das ^{2}H DQ OMAS Experiment wurde am deuterierten Cytosin-Monohydrat (Abbildung 4.2) und an der deuterierten Pyrimidinon-Form (Abbildung 4.1) durchgeführt, um die Quadrupolkopplungen der Deuteronen in den Wasserstoffbrücken zu bestimmen.
In Abbildung 7.2 und Abbildung 7.3 sind ^{2}H DQ OMAS Experimente von ^{2}H-Cytosin-Monohydrat mit Anregungszeiten von $\tau_R/4$ und $\tau_R/2$ gezeigt. Das Deuteron D1 in der N2–D1···N1-Brücke ist vollständig aufgelöst, während sich die Spektren von D2 und D3 der ND_2-

Gruppe überlagern. Das D2 geht eine Wasserstoffbrücke zum Carbonyl-Sauerstoff des Nachbarmoleküls ein und das D3 eine zum Wasser. Wie die quantenchemischen Rechnungen im folgenden Kapitel bestätigen werden, haben beide eine ähnliche Quadrupolkopplung und können durch die Experimente nicht unterschieden werden.

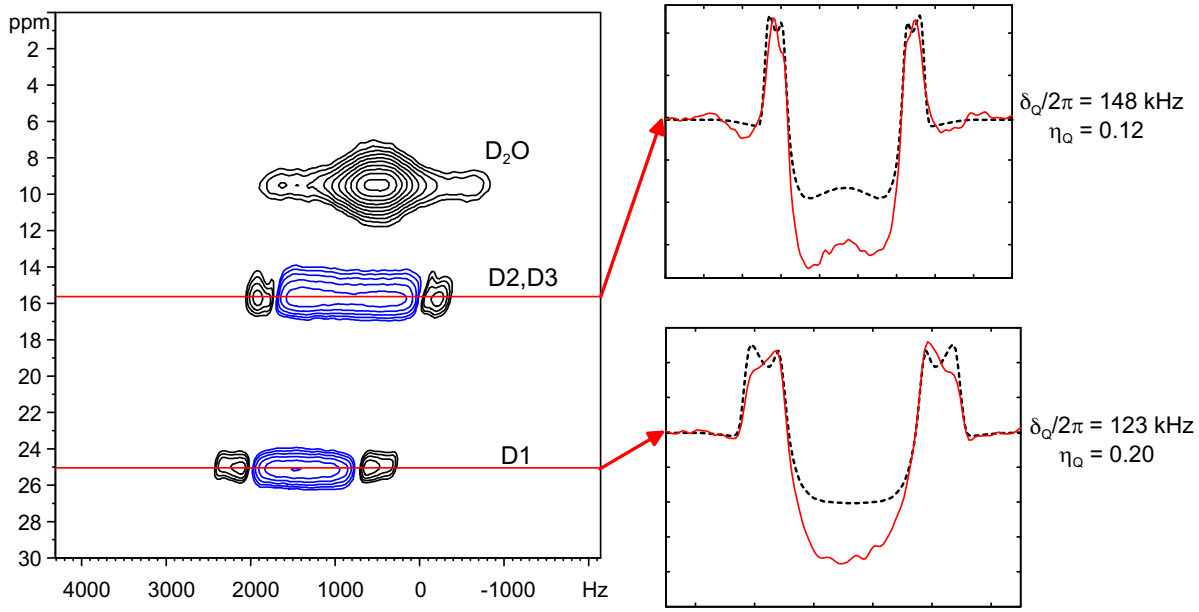


Abbildung 7.2: ^{2}H DQ OMAS Experiment mit $\tau_R/4$ bei 29762 Hz MAS und $\Delta\beta$=0.581° von Cytosin-Monohydrat. Durch die Spektren von D1 und D2/D3 wurden Schnitte gelegt, deren Muster (rot) durch berechnete Muster (schwarz gepunktet) mit den angegebenen Parametern simuliert wurden.

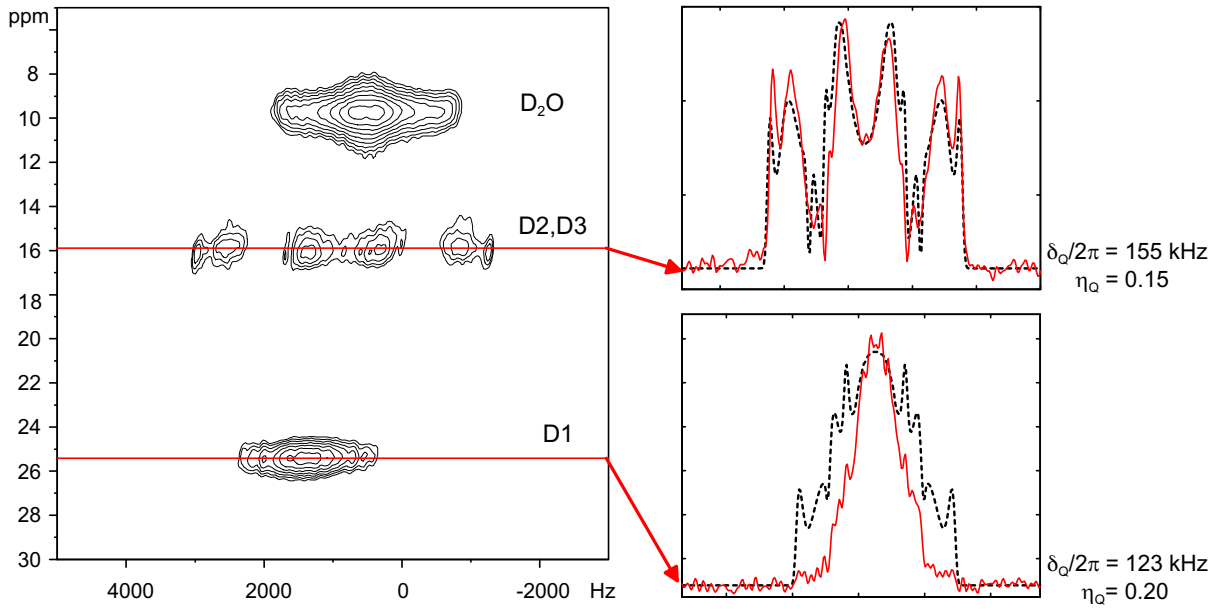


Abbildung 7.3: ^{2}H DQ OMAS Experiment mit $\tau_R/2$ bei 29762 Hz MAS und $\Delta\beta$=0.581° von Cytosin-Monohydrat. Durch die Spektren von D1 und D2/D3 wurden Schnitte gelegt, deren Muster (rot) durch berechnete Muster (schwarz gepunktet) mit den angegebenen Parametern simuliert wurden.

Durch eine Simulation der Spektren wurden die Quadrupolkopplung $\delta_Q/2\pi$ und der Asymmetrieparameter η_Q bestimmt. Für D1 werden (123±3) kHz und 0.20±0.05 gemessen und für D2/D3 werden (151±5) kHz und 0.14±0.05 bestimmt. Im $\tau_R/2$-Experiment sind die Intensitäten der äußeren Stufen des D1-Spektrums wesentlich niedriger als in der Simulation, was vermutlich mit transversaler Relaxation der ^{2}H-Polarisation und mit Bandbreiteneffekten der Pulse zu tun hat. Es wurde daher auf die Breite der Stufen und nicht auf die Intensität gefittet.
Für die Ureido-pyrimidinon-Verbindung geschah die Deuterierung der Pyrimidinon-Form durch Umkristallisation aus deuteriertem Methanol, wobei die gelöste Verbindung über Nacht unter Rückfluss gehalten wurde. Interessanterweise fand der Isotopenaustausch selektiv nur in der äußeren N–H3···O-Wasserstoffbrücke statt, während die anderen beiden Wasserstoffbrücken noch fast vollständig protoniert blieben. Es wurde eine Ausgangsverbindung eingesetzt, die nicht ^{15}N-markiert war. Das D3 wurde mit dem ^{2}H DQ OMAS Experiment vermessen, wobei eine Quadrupolkopplung von (115±3) kHz und ein Asymmetrieparameter von 0.20±0.05 erhalten wurde (Abbildung 7.4c). Um die anderen beiden Positionen zu deuterieren, wurde die Verbindung geschmolzen, wodurch ein schneller Protonen/Deuteronen-Austausch möglich wurde. Nach dem Abkühlen wurde die Pyrimidinon-Form zurückerhalten, wobei alle drei Wasserstoffbrücken gleichmäßig zu einem Drittel deuteriert waren. Mit dieser Verbindung wurden die Positionen D1 und D2 vermessen (Abbildung 7.4a und b). Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis ist jedoch sehr schlecht, so dass nur relativ ungenaue Werte erhalten wurden. Für die Quadrupolkopplungen wurde für D1 (113±10) kHz und für D2 (120±10) kHz erhalten.

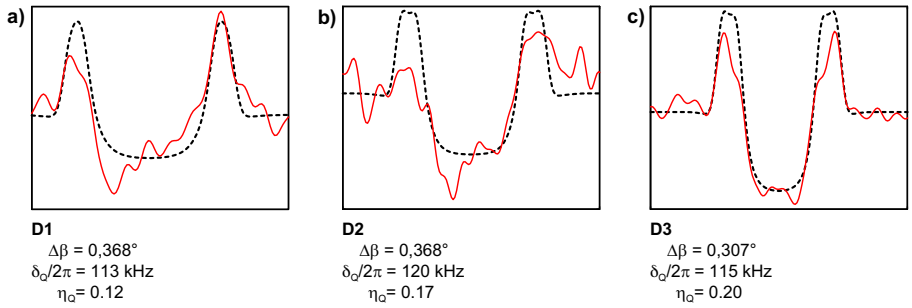


Abbildung 7.4: Spektren (rot) von den Deuteronen D1 (a), D2 (b) und D3 (c) der Pyrimidinon-Form und Simulationen (schwarz gepunktet) mit den angegebenen Parametern. Zur Nummerierung vergleiche Abbildung 4.1.

7.3 Berechnung von Quadrupolkopplungen

In diesem Abschnitt geht es um die Berechnung von Quadrupolkopplungen mit quantenchemischen Methoden. Für das Cytosin-Monohydrat wurde das CPMD-Programmpaket genutzt, welches in Kapitel 4.4.1 vorgestellt wurde. Die Berechnung von Quadrupolkopplungen mit diesem Programm ist in [Schmidt 04] beschrieben.

Für Cytosin-Monohydrat wurden die Quadrupolkopplungen der Deuteronen D1, D2 und D3 im ersten Schritt für die Gleichgewichtsstruktur berechnet, die durch die Geometrieoptimierung erhalten wurde. Anschließend wurde eine Moleküldynamik-Simulation über 3 ps mit einer Schrittweite von 0.1 fs durchgeführt, bei jedem Schritt die Quadrupolkopplung berechnet und ein Mittelwert über die Zeit gebildet. Auf diese Weise sollte der Einfluss von Schwingungseffekten auf die Quadrupolkopplung untersucht werden. Es wurde eine Simulationen bei einer mittleren Temperatur von 300 K durchgeführt, deren Ergebnisse in Tabelle 7.1 dargestellt sind.

Tabelle 7.1: Berechnete und experimentelle Daten von Cytosin-Monohydrat.

Position	Eigenschaft	Gleichgewichtsstruktur 0 K	Dynamik 300K	Experiment
D1	$\delta_Q/2\pi$ [kHz]	105.7	115.3	123 (±3)
	η_Q	0.261	0.238	0.20 (±0.05)
D2	$\delta_Q/2\pi$ [kHz]	137.5	147.2	151 (±5)
	η_Q	0.213	0.199	0.14 (±0.05)
D3	$\delta_Q/2\pi$ [kHz]	139.0	146.9	151 (±5)
	η_Q	0.203	0.197	0.14 (±0.05)

Aus den Daten kann ersehen werden, dass die Kopplungskonstanten von D2 und D3 beide etwa gleich sind und deshalb in den experimentellen Spektren zwischen beiden Positionen nicht unterschieden werden konnte. Umgekehrt ist dadurch auch die Auswertung des überlagerten Spektrums für D2 und D3 berechtigt. Die berechneten Kopplungen aus der Gleichgewichtsstruktur sind beim D1 um etwa 15 % und beim D2/D3 um etwa 10 % niedriger als im Experiment. Die Asymmetrieparameter verhalten sich umgekehrt, sie sind um 30-50 % zu hoch. Wird nun eine Dynamik-Simulation durchgeführt, so werden schwingungsgemittelte Kopplungskonstanten und Asymmetrieparameter erhalten. Es kann grundsätzlich festgestellt werden, dass die Ergebnisse durch die Schwingungsmittelung deutlich näher bei den experimentellen Ergebnissen liegen, was zeigt, dass Schwingungseffekte einen großen Einfluss auf Quadrupolkopplungen haben und dass es wichtig ist, sie zu berücksichtigen. Durch die Schwingungen werden die Kopplungskonstanten größer und die Asymmetrieparameter kleiner. Ein Vergleich mit den experimentellen Werten zeigt, dass die Kopplungskonstanten in relativ guter Überstimmung sind, insbesondere beim D2/D3. Die berechneten Werte sind tendenziell etwas niedriger. Bei den Asymmetrieparametern sind die berechneten Werte auch nach der Dynamik zu hoch, wobei die experimentellen Werte relativ stark fehlerbehaftet sind. Der Trend, dass die D2/D3 einen niedrigeren Asymmetrieparameter haben als das D1, stimmt aber in Messung und Rechnung gut überein.

In Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis Gauss wurde für die Pyrimidinon-Form ebenfalls die Quadrupolkopplung quantenchemisch berechnet. Dazu wurde die mit MP2 volloptimierte Struktur **1'** (siehe Tabelle 4.1) zu Grunde gelegt und die Feldgradienten mit verschiedenen Basissätzen ausgerechnet. Erfahrungsgemäß benötigen Feldgradientenrechnungen relativ große Basissätze. Für die Deuteronen D2 und D3 wurden in mit einem QZVPP-Basissatz Quadrupolkopplungen von 115 kHz und 107 kHz erhalten, die mit den experimentellen Werten von (120±10) kHz und (116±3) kHz zu vergleichen sind. Dieses erste Ergebnis ist viel versprechend und eine genauere Untersuchung mit weiteren Rechnungen ist in Arbeit.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass mit dem ^{2}H OMAS Experiment Quadrupolkopplungen von mehrfach deuterierten Verbindungen mit guter Genauigkeit gemessen werden können. Weiterhin ist mit dem CPMD-Programmpaket eine Berechnung von Quadrupolkopplungen in kristallinen Verbindungen möglich, wobei die Ergebnisse in guter Übereinstimmung mit den experimentellen Werten sind. Bei den Rechnungen spielen Schwingungseffekte eine entscheidende Rolle. Diese werden bei den CPMD-Rechnungen im Rahmen der Born-Oppenheim-Näherung berücksichtigt und beinhalten keine quantenchemischen Nullpunktsschwingungseffekte. Es bleibt daher zu prüfen, in wie weit solche Effekte die Ergebnisse beeinflussen. Die Ergebnisse zeigen jedoch, dass die prinzipiellen Trends ausgezeichnet wiedergegeben wurden. Die Methode ist gerade auch für größere Systeme interessant, welche mit CPMD-Rechnungen zugänglich sind.

8 Zusammenfassung

Ziel dieser Diplomarbeit war, Methoden der Festkörper-NMR-Spektroskopie zur Strukturaufklärung von supramolekularen Systemen zu entwickeln und zu verbessern. Diese Systeme zeichnen sich durch die gezielte Ausnutzung von intermolekularen Wechselwirkungen zur Organisation molekularer Bausteine in übergeordnete Strukturen aus. Ein großes Vorbild in dieser Hinsicht sind biologische Systeme, bei denen eine hochselektive, molekulare Strukturbildung und -erkennung über supramolekulare Organisation erreicht wird. Die wichtigste Wechselwirkung ist die Wasserstoffbrücke, da diese die stärkste gerichtete Wechselwirkung ist und komplexe wasserstoffverbrückte Systeme (z.B. die DNA) eine sehr hohe Selektivität besitzen. Ein generelles Problem bei der Strukturaufklärung in wasserstoffverbrückten Systemen sind die Wasserstoffpositionen, welche durch Röntgenbeugungsmethoden praktisch nicht zu bestimmen sind. Eine Lösung dieses Problems durch die Neutronenbeugung an deuterierten Proben ist nur bedingt möglich, da beide Beugungsmethoden Einkristalle entsprechender Größe benötigen und sehr viele supramolekulare Systeme nur polykristallin vorliegen. Für solche Verbindungen ist die Festkörper-NMR-Spektroskopie die wichtigste und oft einzige experimentelle Alternative, um Informationen über die Struktur zu gewinnen.
In dieser Arbeit wurden Wasserstoffbrücken mit Methoden zur Wiedereinkopplung dipolarer Wechselwirkungen unter schneller Probenrotation untersucht. Bevor die Ergebnisse kapitelweise zusammengefasst werden, sollen zuerst die Kernaussagen genannt werden:

- ^{15}N–^{1}H-Abstände sind mit einer Genauigkeit von ±1 (±5) pm messbar im Bereich von 100 (200) pm.
- Bei dieser Genauigkeit sind Schwingungskorrekturen zu berücksichtigen, wenn die Ergebnisse mit anderen Methoden wie quantenchemischen Rechnungen oder Neutronenbeugung verglichen werden.
- ^{2}H kann als Ersatz für ^{1}H verwendet werden sowohl im Hinblick auf die chemische Verschiebung als auch im Hinblick auf Dipol-Dipol-Kopplungen. Rotorsynchronisation der MAS-Experimente macht ^{2}H zum Quasi-Spin-1/2-Kern.
- ^{2}H–^{15}N-Abstände und ^{2}H–^{1}H-Abstände sind ebenfalls mit einer Genauigkeit von wenigen Pikometern messbar.
- ^{2}H-^{15}N- und ^{2}H-^{1}H-Spektren zur Korrelation der chemischen Verschiebungen sind mit einer Qualität messbar, die mit derjenigen von reinen Spin-1/2-Systemen vergleichbar ist.

In **Kapitel 1** wurde einleitend in das Thema eingeführt, bevor in den **Kapiteln 2 und 3** eine Übersicht über die theoretischen Grundlagen der verwendeten NMR-Methoden gegeben wird.

In **Kapitel 4** wurden NMR-Methoden aufgezeigt, mit denen die kurzen und langen **N-H-Abstände in N–H···N-, N–H···O- und O–H···N-Wasserstoffbrücken** über die Dipol-Dipol-Kopplung hochgenau gemessen wurden. Es standen dazu ^{15}N-angereicherte Verbindungen zu Verfügung, zwei komplexe, vierfach wasserstoffverbrückte Ureido-Pyimidinon-Dimere und Cytosin-Monohydrat. Mit ±1 pm und ±5 pm für die kurzen und langen Abstände wurde die bisher höchste Genauigkeit erzielt, mit der N-H-Abstände in polykristallinen, komplexen supramolekularen Verbindungen in der NMR gemessen wurden. Es wurde die REREDOR- und HDOR-Pulssequenz verwendet, um Seitenbandenmuster aufzunehmen. Aus diesen konnten durch Simulation die Abstandsinformationen gewonnen werden, wobei die langen Abstände nur mit REREDOR gemessen werden konnten. Einflüsse von endlichen Pulslängen, Störkopplungen, wie sie in mehrfachen Wasserstoffbrücken unvermeidlich sind, und Rotationsinstabilitäten wurden systematisch untersucht und bei den Simulationen mitberücksichtigt. Für die routinemäßige Auswertung und Entwicklung der Methoden wurde ein Matlab-Programm geschrieben, welches im **Anhang** beschrieben wird.

Neben den experimentellen Messungen wurden quantenchemische Rechnungen durchgeführt, mit denen die Abstände verglichen werden konnten. Für den kovalenten Abstand in N–H···N-Brücken wurde beispielsweise ein Wert von (107.5±1) pm gemessen und (103.5±1) pm berechnet. Die Differenz konnte durch Schwingungseffekte erklärt werden, da mit den NMR-Methoden ein schwingungsgemittelter dipolarer Kopplungstensor gemessen wird und somit effektive Abstände erhalten werden. Den entscheidenden Effekt haben die Nullpunktschwingungen, von denen die Torsionsschwingungen den größten Beitrag liefern. Es ist wichtig festzuhalten, dass die Genauigkeit der verschiedenen Messmethoden ein Niveau erreicht hat, auf dem die Berücksichtigung von Nullpunktschwingungen wichtig wird, um die Ergebnisse korrekt zu interpretieren.

Das Hauptaugenmerk dieser Diplomarbeit liegt auf der Messung von heteronuklearen Abständen. Jedoch beschäftigt sich **Kapitel 5** mit der **Messung von homonuklearen Abständen**, den ^{1}H-^{1}H-Abständen in den Ureido-Pyrimidinonen, durch Anregung von Doppelquantenzuständen. Diese Abstände wurden früher schon gemessen [Schnell 02], wobei die Ergebnisse nicht in Einklang mit den quantenchemischen Rechnungen zu bringen waren. Durch die erneute Untersuchung konnten Fehlerquellen identifiziert werden, und es wurden generelle Probleme bei der Messung von homonuklearen Abständen mit dieser Methode aufgezeigt. Während für die Pyrimidinon-Form korrekte Abstände in Übereinstimmung mit den Rechnungen erhalten wurde, konnten Abstände in der Pyrimidinol-Form mit der Back-to-Back-Methode nicht gemessen werden.

Eine völlig neue Methode wurde in **Kapitel 6** entwickelt, die für die Strukturaufklärung in supramolekularen Systemen sehr nützlich sein, aber auch auf andere Systeme übertragen werden kann. Sie beruht auf der aktiven Nutzung der chemischen Verschiebung des Deuterons und seiner Dipol-Dipol-Kopplung. Es wurde gezeigt, dass die **isotrope chemische Ver-**

schiebung der Deuteronen nicht signifikant von derjenigen der Protonen abweicht und dass die ^{2}H-Spektren unter schnellem MAS mindestens gleichwertig, häufig sogar besser aufgelöst sind. Durch Umkristallisation aus deuterierten, protischen Lösungsmitteln können Positionen in Wasserstoffbrücken einfach und selektiv deuteriert werden, während kohlenstoffgebundene Protonen nicht austauschen. Das Problem bei Deuteronen ist die Quadrupolkopplung, welches die stärkste lokale Wechselwirkung ist und damit eine große Störung für die dipolare Wechselwirkung und deren Erfassung. Es wurde die REREDOR-DD(X)-Pulssequenz entwickelt, mit welcher Abstände zwischen ^{2}H und einem Spin-1/2-Kern X über die Dipol-Dipol-Kopplung gemessen werden kann. Dieses Experiment vereinigt die Vorteile der Seitenbandengenerierung mit denen der ^{2}H-Detektion und wurde an deuteriertem Cytosin-Monohydrat getestet. Es konnten **^{2}H–^{15}N- und ^{2}H–^{1}H-Abstände** mit hoher Genauigkeit und in ausgezeichneter Übereinstimmung mit Daten von der Neutronenbeugung gemessen werden. Ein großer Vorteil der Methode ist, dass die Auswertung ohne genaue Kenntnis der Quadrupolkopplung möglich ist, wodurch Probleme bei der Messung von Quadrupolkopplungen umgangen werden.

Neben dem REREDOR-DD(X) wurde ein 2-dimensionales Korrelationsexperiment entwickelt, das HSQC-DD(X), mit welchem Nachbarschaftsbeziehungen zwischen ^{2}H und einem Spin-1/2-Kern X ermittelt werden können. An deuteriertem Cytosin-Monohydrat wurde es als ^{2}H-^{15}N und ^{2}H-^{1}H getestet. Ein weiteres ^{2}H-^{1}H-Korrelationsspektrum wurde von deuteriertem Histidin gemessen. Die Qualität der Spektren ist dabei keineswegs schlechter als die von reinen Spin-1/2-Korrelationsexperimenten. Am Beispiel des Cytosin-Monohydrats konnte gezeigt werden, dass durch Umkristallisation aus D_2O und Anwendung der Methode die chemischen Verschiebungen aller Wasserstoffpositionen aufgelöst und eindeutig zugeordnet werden konnten, was durch „normale“ ^{1}H-^{15}N-Korrelationsexperimente auf Grund von Überlagerungen nicht möglich gewesen wäre. Die Anwendungen dieser Methode sind vielfältig, es wurde gezeigt, dass durch die Deuterierung Informationen über die lokale Struktur gewonnen werden können, was auch für andere, selektiv deuterierte Systeme interessant sein könnte. Weiterhin ist die Kinetik des Isotopenaustauschs in Wasserstoffbrücken von deren Stärke und den experimentellen Bedingungen abhängig, so dass in komplexen Systemen unterschiedliche Positionen selektiv deuteriert und durch die entwickelten Experimente identifiziert werden können.

Das **Kapitel 7** hatte schließlich die **Messung und Berechnung von ^{2}H-Quadrupolkopplungen in Wasserstoffbrücken** zum Thema. Diese sind, ähnlich wie die chemische Verschiebung, sehr sensitiv auf die Gemetrie in Wasserstoffbrücken. Es wurde gezeigt, dass durch die Anwendung eines 2-dimensionalen Off-Magic-Angle-Spinning-Experiments die simultane Bestimmung der Quadrupolkopplungen in mehrfach deuterierten Verbindungen möglich ist. Bei der quantenchemischen Berechnung wurde deutlich, dass interatomare Schwingungen einen großen Einfluss auf die Ergebnisse haben. Sie wurden im

Rahmen der Born-Oppenheim-Näherung mit Hilfe des CPMD-Programmpakets berücksichtigt und die gemessen Quadrupolkopplungen konnten in guter Übereinstimmung berechnet werden. Beide Methoden eignen sich zur Anwendung in größeren, komplexen, wasserstoffverbrückten Systemen.

9 Anhang

Experimentelle Bedingungen

Für die NMR-Experimente kamen zwei Spektrometer zum Einsatz, ein Bruker DRX700 und ein Bruker DSX500.
Das DSX500 hat eine Feldstärke von 11.7 T (entsprechend einer ^{1}H-Larmor-Frequenz von 500.13 MHz) und wurde nur für die ^{2}H-^{15}N-Korrelationsexperimente (Kapitel 6) verwendet. Es wurde ein kommerzieller 4mm-WideBore-Triple-Resonanz-(^{1}HXY)-Probenkopf mit einem 2.5 mm-Stator ausgerüstet, um eine kleinere Spule verwenden zu können. Die Pulsleistungen entsprachen ^{2}H-$\pi/2$-Pulsen von 3 µs und ^{15}N-$\pi/2$-Pulsen von 4 µs. Es wurde mit Rotoren von 2.5 mm Außendurchmesser gearbeitet und die MAS-Frequenz betrug 20 kHz.
Alle anderen Experimente wurden an dem DRX700 mit einer Feldstärke von 16.4 T durchgeführt, entsprechend einer ^{1}H-Larmor-Frequenz von 700.13 MHz. Es kam ein kommerziell erhältlicher Bruker 2.5mm-Doppelresonanz-Probenkopf zum Einsatz, dessen X-Kanal sowohl für Deuterium (107.45 MHz) als auch für Stickstoff (70.94 MHz) einstellbar war. Es wurde durchgängig mit 2.5 mm Rotoren bei einer MAS-Frequenz von 29762 Hz gearbeitet, die durch eine automatische Einheit auf ±3 Hz eingeregelt wurde. Die $\pi/2$-Pulslängen waren auf allen Kanälen typischerweise 2.5 µs. Nur bei den REREDOR-DD(H)- und HSQC-DD(H)-Experimenten waren es 2 µs.
Die ^{2}H-Detektion geschah rotorsynchronisiert ohne digitales Oversampling. Bei Stickstoffdetektion wurde eine schwache TPPM-^{1}H-Entkopplung [Bennet 95] verwendet. Die Stickstoffanregung geschah über eine Standard-Kreuzpolarisation mit 4 ms Kontaktpulsen und einer linearen Rampe auf dem ^{15}N-Kanal [Metz 94].
Entsprechend der Spin-Gitter-Relaxationszeiten waren typische Wiederholzeiten für die verwendeten Substanzen: Pyrimidinon-Form 2-3 s (^{1}H), Pyrimidinol-Form 10 s (^{1}H), Cytosin-Monohydrat 25-60 s (^{1}H) und 1-2 s (^{2}H).

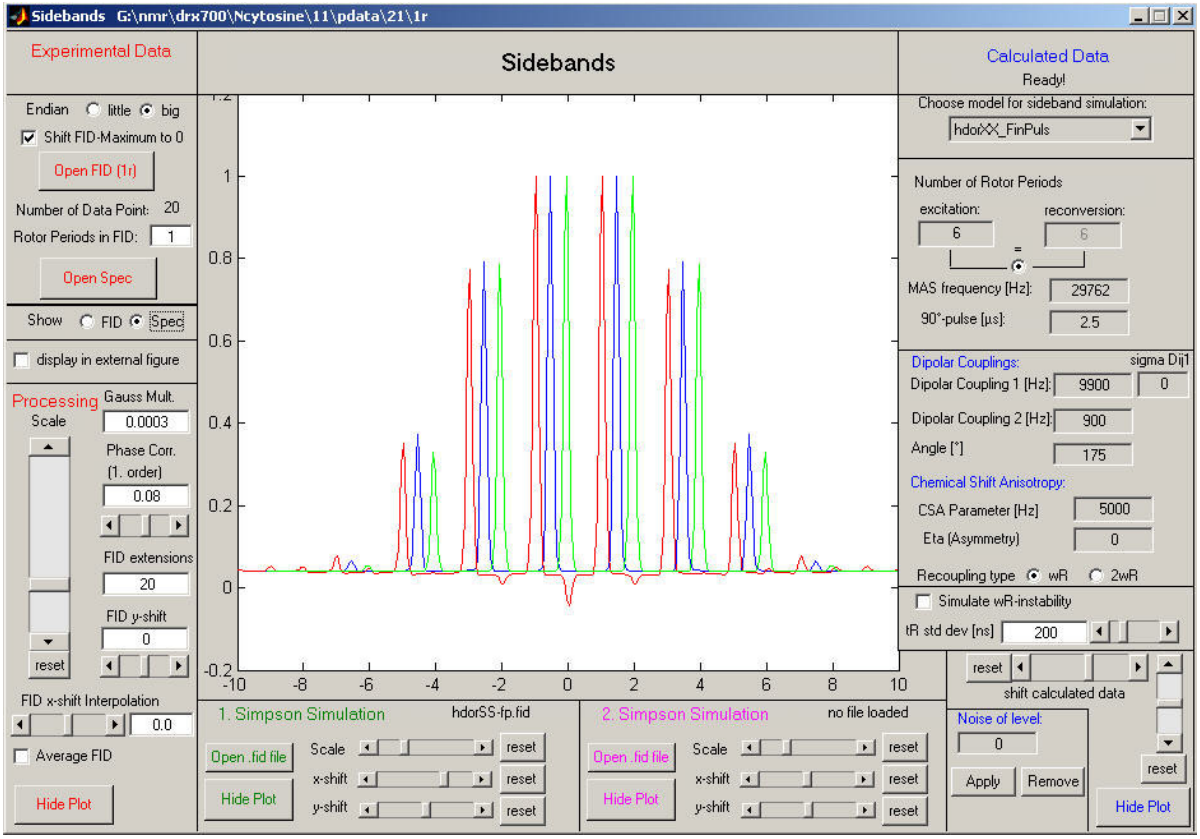
Das Matlab-Programm „SIDEBANDS“

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde das Matlab-Programm „SIDEBANDS“ erstellt, welches die Auswertung von Seitenbandenexperimenten unterschiedlichster Art erleichtert. Es können die Daten vom Spektrometer direkt eingelesen und prozessiert werden. Das Programm ermöglicht ein Hintereinanderhängen der Modulationen, eine Gaußsche Dämpfung, eine Phasenkorrektur, eine Zentralbandenkorrektur und die Fourier-Transformation. Es können weiterhin „fertige“ Seitenbandenmuster eingelesen werden.

Die Experimente können analytisch simuliert werden, wobei unterstützt wird: REREDOR, HDOR (auch in REPT-Varianten), Deuteronen-REREDOR, Doppelquanten-Back-to-Back, CODEX und CSA-Seitenbanden. Es können zwei Dipol-Dipol-Kopplungen inklusive Winkel berechnet werden. Endliche Pulslängen können mitberücksichtigt werden (siehe Kapitel 4.2.2). Die Simulation von Fluktuationen in der MAS-Frequenz nach dem in Kapitel 4.2.4 beschriebenen Modell ist möglich.

Es kann weiterhin mit Verteilungen über die Dipol-Dipol-Kopplung gerechnet werden, was beispielsweise bei der Untersuchung von Oligopeptiden auf Harzpartikel-Oberflächen eine Rolle spielt.

Mit dem SIMPSON-Programm [Bak 00] können für die Seitenbandenexperimente numerische Rechnungen durchgeführt werden, deren Ergebnisse direkt eingelesen und mit prozessiert werden können.



10 Literaturverzeichnis

[Ahlrichs 89] R. Ahlrichs, M. Bär, M. Häser, H. Horn, and C. Kölmel. *Chem. Phys. Lett.*, **162**, 165 (1989).

[Andrew 58] E. R. Andrew, A. Bradbury, R. G. Eades. *Nature* **182**, 1659 (1958).

[Andrew 59] E. R. Andrew, A. Bradbury, R. G. Eades. *Nature* **183**, 1802 (1959).

[Bak 00] M. Bak, J. T. Rasmussen, and N. C. Nielsen. *J. Magn. Reson.*, **147**, 296–330 (2000).

[Bak 01] K.L. Bak, J. Gauss, P. Jorgensen, J. Olsen, T. Helgaker, and J.F. Stanton. *J. Chem. Phys.*, **114**, 6548 (2001).

[Becke 88] A.D. Becke. *Phys. Rev. A*, **38**, 3098 (1988).

[Becker 96] E. D. Becker. Hydrogen bonding in *Encyclodedia of Nuclear Magnetic Resonance* Vol. 4, 2409-2415 (1996), Wiley, Chichester.

[Beijer 98] F. H. Beijer, R. P. Sijbesma, H. Kooijman, A. L. Spek, and E. W. Meijer. *J. Amer. Chem. Soc.*, **120**, 6761–6769, (1998).

[Bendich 49] A. Bendich, H. Getler and G. B. Brown. J.Biolog. Chem. **177**, 565-570, (1949)

[Bennett 95] A. E. Bennett, C. M. Rienstra, M. Auger, K. V. Lakshmi, and R. G. Griffin. *J. Chem. Phys.*, **103**, 6951–6958 (1995).

[Berglund 80] B. Berglund, R. Vaughan. *J. Chem. Phys.*, **73**, 2037 (1980).

[Bertolasi 97] V. Bertolasi, P. Gilli, V. Ferretti, G. Gilli. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 945 (1997).

[Brunsfeld 01] L. Brunsfeld, B. J. B. Folmer, E. W. Meijer, and R. P. Sijbesma. *Chem. Rev.*, **101**, 4071–4097, (2001).

[Carravetta 00] M. Carravetta, M. Eden, X. Zhao, A. Brinkmann, M. H. Levitt. Symmetry Principles for the Design of Radiofrequency Pulse Sequences in the Nuclear Magnetic Resonance of Rotating Solids. *Chem. Phys. Lett.* **321**, 205–215 (2000).

[Case 99] D. A. Case. *J. Biomol. NMR*, **15**, 95–102 (1999).

[CPMD 90] Computer code CPMD version 3.8. Copyright IBM Corp. and MPI-FKF Stuttgart 1990–2003, http://www.cpmd.org

[deAzevedo 99] E. R. deAzevedo, W.-G. Hu, T. J. Bonagamba, K. Schmidt-Rohr. Centerband-Only Detection of Exchange: Efficient Analysis of Dynamics in Solids by NMR. *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 8411–8412 (1999).

[Dusold 00] S. Dusold, A. Sebald. Dipolar Recoupling under Magic-Angle Spinning Conditions. In Annual reports on NMR spectroscopy, Volume 41, pp. 185–264. Academic Press (2000).

[Eichkorn 95] K. Eichkorn, O. Treutler, M. Höhm, M. Häser, and R. Ahlrichs. *Chem. Phys. Lett.*, **242**, 652 (1995).

[Ernst 04] M. Ernst, M. A. Meier, T. Tuherm, A. Samoson, B. H. Meier, J. Am. Chem. Soc., 126, 4764-4765 (2004)

[Feike 96] M. Feike, D. E. Demco, R. Graf, J. Gottwald, S. Hafner, H. W. Spiess. Broadband Multiple-Quantum NMR Spectroscopy. *J. Magn. Reson. A* **122**, 214–221 (1996).

[Goedecker 96] S. Goedecker, M. Teter, J. Hutter. *Phys. Rev. B* **54**, 1703–1710 (1996)

[Gullion 89a] T. Gullion, J. Schaefer. Detection of Weak Heteronuclear Dipolar Coupling by Rotational-Echo Double-Resonance Nuclear Magnetic Resonance. *Adv. Magn. Reson.* **13**, 57–83 (1989).

[Gullion 89b] T. Gullion, J. Schaefer. Rotational-Echo Double-Resonance NMR. *J. Magn. Reson.* **81**, 196–200 (1989).

[Gullion 90] T. Gullion, D. B. Baker, M. S. Conradi. New, Compensated Carr-Purcell Sequences. *J. Magn. Reson.* **89**, 479–484 (1990).

[Gullion 97] T. Gullion. Measurement of Heteronuclear Dipolar Interactions by Rotational-Echo, Double-Resonance Nuclear Magnetic Resonance. *Magn. Reson. Rev.* **17**, 83–131 (1997).

[Harris 00] T. K. Harris, Q. Zhao, A. S. Mildvan, *J. Mol. Struct.*, **552**, 97-109 (2000).

[Henry 85] E. R. Henry and A. Szabo. *J. Chem. Phys.*, **82**, 4753–4761 (1985).

[Hoffmann 04] A. Hoffmann, I. Schnell. *ChemPhysChem*, **5**, 966-974 (2004).

[Hohenberg 64] P. Hohenberg, W. Kohn, *Phys. Rev.* **136**, B864 (1964).

[Hughes 02] E. Hughes, T. Gullion, A. Goldbourt, S. Vega, A. J. Vega. *J. Magn. Reson.*, **156**, 230-241 (2002).

[Ishii 97] Y. Ishii, T. Terao, and Soichi Hayashi. *J. Chem. Phys.*, **107**, 2760–2774 (1997).

[Jaroniec 00] C. P. Jaroniec, B. A. Tounge, C.M. Riestra, J. Herzfeld, and R. G. Griffin. *J. Magn. Res.*, **146**, 132–139 (2000).

[Jaroniec 01] C. P. Jaroniec, B. A. Tounge, J. Herzfeld, R. G. Griffin, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 3507-

3519 (2001)
[Kohn 65] W. Kohn, L. Sham, *Phys. Rev.* **140**, A11 (1965) 33.
[Lee 95] Y. K. Lee, N. D. Kurur, M. Helmle, O. G. Johannessen, N. C. Nielsen, M. H. Levitt. Efficient Dipolar Recoupling in the NMR of Rotating Solids. A Sevenfold Symmetric Radiofrequency Pulse Sequence. *Chem. Phys. Lett.* **242**, 304–309 (1995).
[Lee 88] C. Lee, W. Yang, and R.G. Parr. *Phys. Rev. B*, **37**, 785, 1988.
[Lehn 95] J.-M. Lehn, Supramolekular Chemistry. VCH, Weinheim (1995).
[Levitt 01] M. H. Levitt. Spin dynamics. John Wiley & Sons (2001)
[Levitt 02] M. H. Levitt. Symmetry-Based Pulse Sequences in Magic-Angle Spinning Solid-State NMR in *Encyclodedia of Nuclear Magnetic Resonance* Vol. 9, 165-196 (2002), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
[Lowe 59] I. J. Lowe. *Phys. Rev. Lett.*, **2**, 285 (1959)
[Maricq 79] M. M. Maricq, J. S.Waugh. NMR in Rotating Solids. *J. Chem. Phys.* **70**, 3300–3316 (1979).
[Marion 83] D. Marion, K. Wüthrich. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **113**, 967-974 (1983).
[Mehring 83] M. Mehring. High Resolution NMR of Solids. Springer-Verlag, Berlin (1983).
[Metz 94] G. Metz, X. Wu, and S. O. Smith. *J. Magn. Reson. A*, **110**, 219–227 (1994).
[Møller 34] C. Møller and M. S. Plesset. *Phys. Rev.*, **46**, 618 (1934).
[Nielsen 94] N. C. Nielsen, H. Bilsoe, H. J. Jakobsen, M.H. Levitt. Double-quantum Homonuclear Rotary Resonance: Efficient Dipolar Recovery in Magic-angle Spinning Nuclear Magnetic Resonance *J. Chem. Phys.* **101**, 1994 1805-1812 (1994)
[Ono 02] S. Ono, T. Taguma, S. Kuroki, I. Ando, H. Kimura, K. Yamauchi. *J. Mol. Struct.* **602-603**, 49-58 (2002).
[Pake 48] G. E. Pake. Nuclear Resonance Absorption in Hydrated Crystals: Fine Structure of the Proton Line. *J. Chem. Phys.* **16**, 327–336 (1948).
[Parr 89] R. G. Parr and W. Yang. *Density Functional Theory of Atoms and Molecules*. Oxford University Press (1989).
[Reif 01] B. Reif, C. P. Jaroniec, C. M. Rienstra, M. Hohwy, R. G. Griffin. *J. Magn. Reson.*, **151**, 320–327 (2001)
[Roberts 87] J. E. Roberts, G. S. Harbison, M. G. Munowitz, J. Herzfeld, R. G. Griffin. *J. Am. Chem. Soc.*, 109, 4163-4169 (1987)
[Rose 59] M. E. Rose. Elementary Theory of Angluar Momentum. Wiley, London (1959).
[Saalwächter 02] K. Saalwächter and I. Schnell. *Solid State Nucl. Magn. Res.*, **22**, 154–187 (2002).
[Sack 00] I. Sack, Y. S. Balazs, S. Rahimipour, and S. Vega. *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 12263-12269 (2000).
[Schäfer 92] A. Schäfer, H. Horn, and R. Ahlrichs. *J. Chem. Phys.*, **97**, 2571 (1992).
[Schäfer 94] A. Schäfer, C. Huber, and R. Ahlrichs. *J. Chem. Phys.*, **100**, 5829 (1994).
[Schmidt 04] J. Schmidt. Analyse experimenteller NMR-Parameter in Festkörpern mittels Computersimulation, Diplomarbeit, Universität Mainz (2004)
[Schmidt-Rohr 94] K. Schmidt-Rohr, H. W. Spiess. Multidimensional Solid-State NMR and Polymers. Academic Press, London (1994).
[Schnell 02] I. Schnell, B. Langer, S. H. M. Söntjens, M. H. P. van Genderen, R. P. Sijbesma, and H. W. Spiess. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **4**, 3750–3758, (2002).
[Schnell 01a] I. Schnell, H. W. Spiess. ADVANCES IN MAGNETIC RESONANCE Highresolution 1H NMR Spectroscopy in the Solid State: Very Fast Sample Rotation and Multiple-quantum Coherences. *J. Magn. Reson.* **151**, 153–227 (2001).
[Schnell 01b] I. Schnell, B. Langer, S. H. M. Söntjens, M. H. P. van Genderen, R. P. Sijbesma, H. W. Spiess. *J. Magn. Reson.*, **150**, 57-70 (2001).
[Schulz-Dobrick 04] M. Schulz-Dobrick, T. Metzroth, H. W. Spiess, J. Gauss, I. Schnell. Determining the Geometry of Multiple Hydrogen Bonds in Solids with Picometer Accuracy by Quantum-Chemical Calculations and 1H-15N Fast-MAS NMR Spectroscopy, *ChemPhysChem*, eingereicht
[Sijbesma 97] R. P. Sijbesma, F. H. Beijer, L. Brunsveld, B. J. B. Folmer, J. H. K. K. Hirschberg, R. F. M. Lange, J. K. L. Lowe, and E. W. Meijer. *Science*, **278**, 1601–1604, (1997).
[Smirnov 96] S. N. Smirnov, N. S. Golubev, G. S. Denisov, H. Benedict, P. Schah-Mohammedi, H.-H. Limbach. *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 4094-4101 (1996).
[Söntjens 00] S. H. M. Söntjens, R. P. Sijbesma, M. H. P. van Genderen, and E. W. Meijer. *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 7487–7493, (2000).
[Söntjens 01] S. H. M. Söntjens, R. P. Sijbesma, and E. W. Meijer. *unpublished data*, (2001).
[Sorensen 83] O. W. Sørensen, G. W. Eich, M. H. Levitt, G. Bodenhausen, R. R. Ernst. Product Operator Formalism for the Description of NMR Pulse Experiments. *Progr. NMR Spectrosc.* **16**, 163–192 (1983).

[Sprik 96] M. Sprik, J. Hutter, and M. Parrinello. *J. Chem. Phys.*, **105**, 1142 (1996).
[States 82] D. J. States, R. A. Haberkorn, D. J. Ruben. *J. Magn. Reson.*, **48**, 286-292 (1982).
[Steed 00] J. W. Steed, J. L. Atwood. Supramolecular Chemistry. Wiley (2000).
[Steiner 02] T. Steiner. Die Wasserstoffbrücke im Festkörper, *Angew. Chem.,* **114**, 50-80 (2002).
[Turner 00] G. W. Turner, R. L. Johnston, K. D.M. Harris. *Chem. Phys.*, **256**, 159 (2000).
[Weber 80] H. P. Weber, B. M. Weber and R. K. McMullan. *Acta Cryst. B*, **36**, 645-649 (1980).
[Zhao 01] X. Zhao, J. L. Sudmeier, W. W. Bachovchin, M. H. Levitt. *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 11097-11098 (2001).
[Zhao 02] X. Zhao, M. Dvorak, C. Silvernail, J. Belot, G. S. Harbison. *Solid State Nucl. Magn. Res.*, **22**, 363-372 (2002).

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zu dieser Diplomarbeit auf unterschiedliche Art und Weise beigetragen haben:

- Prof. Dr. Hans Wolfgang Spiess für die Möglichkeit die Diplomarbeit in seiner Arbeitsgruppe anzufertigen und die Freiräume bei der Themenstellung,
- Dr. Ingo Schnell für die exzellente Betreuung bei Theorie und Praxis der Festkörper-NMR, welche maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat,
- Thorsten Metzroth und Prof. Dr. Jürgen Gauss für die quantenchemischen Rechnungen der Ureido-Pyrimidinone und die gute Kooperation,
- Erli Sugiono für die Synthese von ^{15}N-markiertem Cytosin-Monohydrat.
- Jochen Schmidt und Dr. Daniel Sebastiani für die Einführung in das CPMD-Programmpaket und die Unterstützung bei den Rechnungen,
- Anke Hoffmann für die Einführung in MATLAB, die Entwicklung des OMAS-Experiments und die Hilfe bei so verwirrenden Programmen wie Linux oder XWinNMR,
- Manfred Hehn, Hanspeter Raich und Frank Keller für die technische Unterstützung rund um Spektrometer und Probenköpfe,
- Dr. Robert Graf für die Betreuung der Spektrometer und des NMR-Seminars,
- Christoph Deller für seine Radsportkompetenz, die Leiden während der Tour und für seinen fantastischen, „schlechten“ Rotor (siehe Abbildung 4.7),
- Katja Klimke, Elka Georgieva und Dr. Achim Koch für die angenehme Atmosphäre im Büro,
- Dr. Ingrid Fischbach für die Unterstützung zu Beginn der Arbeit und dass sie mich auf diese Arbeitsgruppe aufmerksam gemacht hat,
- den übrigen Mitgliedern des AK Spiess,
- Eli
- und meinen Eltern.